

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Leistung und Glukosedecarboxylierung
isolierter Meerschweinchenherzvorhöfe
nach Einwirkung von Pharmaka
unter verschiedenen Stoffwechselbedingungen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Ulrich Peter

aus Frankfurt a. d. Oder

Marburg 1967

Kleinoffsetdruck: Görich & Weiershäuser, Marburg

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität in Marburg
Direktor: Professor Dr. med. W. Schmid

Leistung und Glukosedecarboxylierung
isolierter Meerschweinchenherzvorhöfe
nach Einwirkung von Pharmaka
unter verschiedenen Stoffwechselbedingungen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
der hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

Ulrich Peter

aus Frankfurt a. d. Oder

Marburg 1967



Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am : 19. 5. 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan : Prof. Dr. Dr. H. Heuser

Referent : Prof. Dr. M. Siess

Correferent : Prof. Dr. Dr. H. Heuser

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
I <u>Einleitung</u>	1
II <u>Methodik</u>	
A) Tierpräparation - Nährlösung	3
B) Bestimmung der Herzvorhofarbeit	
1.) Versuchsanordnung	5
2.) Eichung der Feder	5
3.) Die Übertragung der Federauslenkung über den Dehnungsmeßstreifen auf den Direktschreiber	5
4.) Berechnung der Arbeit des Herzvorhofes	6
C) Messung der Decarboxylierung C^{14} -markierter Substrate mit Hilfe der Ionisationskammer von Cary und einem Direktschreiber	
1.) Prinzip	7
2.) Versuchsanordnung	8
3.) Muskelkammer	8
4.) Oxygenatorkammer	9
5.) Gasdurchfluß	9
6.) Ionisationskammer	10
7.) Eichung mit $Na_2C^{14}O_3$	10
a) Abhängigkeit von Puffer und Gasgemisch	10
b) Abhängigkeit von der Trocknung des Gasgemisches	12
1.) $CaCl_2$	12
2.) Kühlfalle	13
3.) Kieselgel	13
c) Prüfung der Schlauchsysteme	14
d) Abhängigkeit der Eichkurven vom Flüssig- keitsvolumen in der Oxygenatorkammer	14
e) Eichkurven von $Na_2C^{14}O_3$ in n-Tyrode bei Einbringen in die Oxygenatorkammer mit und ohne Umlauf des Systems	15
8.) Berechnung des Glukoseverbrauchs aus der $C^{14}O_2$ -Decarboxylierung von Glukose	15
9.) Berechnung des Nutzeffektes der verbrauchten Glukose	17

II

<u>III Versuchsergebnisse</u>	<u>Seite</u>
A) Glukoseverbrauch isolierter Herzvorhöfe in Abhängigkeit von der Außenkonzentration an Glukose	17
B) Glukoseverbrauch bei Anwesenheit von Substraten des Fettsäure - Stoffwechsels	18
C) Glukoseverbrauch isolierter Herzvorhöfe in Abhängigkeit von der Vorspannung und Arbeits- leistung	19
D) Glukoseverbrauch und Leistung unter Einwirkung von Strophanthin	
1.) Nutzeffekt und Frequenz	20
2.) Nutzeffekt bei ansteigender Glukose- konzentration	21
3.) Nutzeffekt bei Anwesenheit von Hexanoat und Hydroxybutyrat	21
E) Glukoseverbrauch und Leistung unter Adrenalin	22
F) Die Wirkung von Reserpin auf den Glukoseverbrauch, die Herzleistung und den Strophanthineffekt	23
G) Einwirkung von Thyroxin und Thrijod-thyronin in vitro und in vivo	
1.) In vitro	23
2.) In vivo	24
H) Glukoseverbrauch und Herzleistung unter Ein- wirkung verschiedener Substanzen	
1.) Äthanol	25
2.) Rotenon	25
3.) Persantin	25
I) Leistung und Glukoseverbrauch unter Anaerobiose	27
IV <u>Diskussion</u>	
VI <u>Zusammenfassung</u>	
VII <u>Literaturverzeichnis</u>	

I Einleitung :

Herzstoffwechsel und Herztätigkeit stehen in einer wechselseitigen Beziehung zueinander. Pharmakologische Beeinflussungen werden üblicherweise zuerst an der Änderung der Herzfunktion beobachtet, und die Veränderung im Stoffwechsel als sekundäre Folge der Funktionsänderung angesehen. Nun gibt es aber eine größere Zahl von Beobachtungen, vorwiegend an isolierten Herzschnitten in der Warburg - Apparatur (WOLLENBERGER, REITER, u.a.), daß Herzglykoside auch ohne Änderung der Arbeit Stoffwechselsteigerungen hervorrufen. Ein ideales Herzpräparat zur Prüfung von Pharmaka müßte genaue Änderungen der Herzleistung unter verschiedenen Bedingungen zusammen mit einer Gesamtbilanz des Stoffwechsels als meßbare Größe enthalten und dabei den physiologischen Bedingungen in vivo möglichst nahe kommen. Wie viele Versuche gezeigt haben, ist ein direktes Messen dieser postulierten Größen am Ganztier sehr schwierig und aufwendig, da Berechnungen der Energiebilanz aus Belastung von rechtem und linkem Herzen, Auswurfmenge des Herzens, Drucken und O_2 -, sowie Substratverbrauch zusammen mit dem Coronarfluss notwendig sind. Das Langendorff-Präparat ist auch nur für bestimmte Fragestellungen geeignet. Durchströmungspräparate, wie das durchströmte Rattenherz nach BLEEHEN und FISHER (1954), das vor allem von WILLIAMSON für seine Untersuchungen verwandt wurde, lassen eine genaue Messung der Arbeitsleistung nicht zu.

Aus diesen Gründen wurde am hiesigen Institut bereits in einer früheren Dissertation (K. Müller) der Versuch unternommen, am isolierten Herzvorhof die Herzarbeit zusammen mit der Decarboxylierung C^{14} -markierter Substrate zu messen. Die Versuche zeigten, daß dies prinzipiell möglich ist, insbesondere ist ein Vorteil für diese Methode darin zu sehen, daß hierbei einmal markierte Substanzen des Kohlehydratstoffwechsels und seine Metaboliten, zum anderen C^{14} -markierte Substanzen des Fettstoffwechsels geprüft werden können und so die Frage der verschiedenen Verwertung und des Nutzeffektes verschiedener Substrate unter pharmakologischer Beeinflussung geprüft werden kann. Das Herz ist ein omnivores Organ

(Wollenberger), das fähig ist, die verschiedensten "Brennstoffe" zu verwerten. Bekannt sind die Untersuchungen von BING, nach dem der Energieumsatz des Herzens zu 70 % durch Verbrennung von Fettsäuren gedeckt wird. Bisherige Untersuchungen am isolierten Organ (Herz-Lungen - Präparat oder Ganztier) befaßten sich vorwiegend mit Substratverbrauch und Sauerstoffausnutzung. Am isolierten Katzenpapillarmuskel wurde von LEE und Mitarbeitern gleichzeitig Kontraktionskraft und Sauerstoffverbrauch unter Einwirkung von Herzglykosiden untersucht. WILLIAMSON bestimmte am perfundierten Rattenherz Laktat- und Glukoseumsatz zusammen mit der Sauerstoffaufnahme unter verschiedenen Diätbedingungen, Hunger und dem Einfluß von Insulin. In ähnlicher Weise untersuchten MORGAN und Mitarbeiter, PARK und Mitarbeiter, sowie WILLIAMSON und Mitarbeiter die Regulierung der Glykolyse im Herzmuskel. Gemeinsam ist diesen Untersuchungen, daß die Ausschöpfung am vorbeifließenden Substrat durch den Herzmuskel geprüft wird und $C^{14}O_2$ - Bestimmungen nur als Endwerte und nicht kontinuierlich gemessen vorliegen.

Der Nachteil in der bisher am Institut entwickelten Methode liegt darin, daß eine Gesamtbilanz im Einzelversuch nicht durchgeführt werden kann, da die gesamte CO_2 - Bildung (aktives und inaktives) infolge der Versuchsbedingungen (inaktives CO_2 im Überschuß) nicht messbar ist (S. 8). Es müßte für jede Fragestellung der Versuch mit markierter Glukose und dann mit C^{14} - markierter Fettsäure durchgeführt werden. C^{14} - markierte Fettsäuren sind augenblicklich sehr schwierig zu erhalten, insbesondere die wasserlöslichen (Hexanoat, β -Hydroxybuttersäure). So bleibt als Möglichkeit für die Gesamtbilanz nur die gleichzeitige Messung des Sauerstoffverbrauchs übrig. In der bisherigen Anordnung, wobei die Muskelkammer gleichzeitig Oxygenatorkammer war, ist dies aber nicht durchführbar. Wenn man aber Muskelkammer und Oxygenatorkammer trennt, muß es technisch möglich sein, durch Anbringen von 2 Sauerstoffelektroden vor und hinter der Muskelkammer die Sauerstoffausschöpfung durch den Herzmuskel zu bestimmen.

In der vorliegenden Arbeit sollte diese Grundbedingung

für die Sauerstoffbestimmung - Trennung von Muskel- und Oxygenatorkammer - methodisch gelöst und die optimalen Bedingungen dafür geschaffen werden. Als weitere Aufgabe sollte in einem Versuch die Leistungssteigerung und die Glukosedecarboxylierung unter physiologischen und pharmakologischen Bedingungen geprüft werden. Insbesondere interessierte dabei, inwieweit inaktive Fettsäuren Leistungssteigerung und Glukoseverbrauch beeinflussen.

Methodik:

II A) Tierpräparation - Nährlösung:

Für die Versuche wurden 120 männliche Meerschweinchen mit einem Gewicht von 300 - 560 g verwandt. Sie erhielten Trockenfutter der Firma Sniff. Leitungswasser wurde ihnen in Trinknapfen gereicht. Die Herzvorhöfe hatten ein Feuchtgewicht von 100 - 200 mg. Die Vorhöfe von Meerschweinchen, die zwischen 350 und 450 g wogen, zeigten die besten Ergebnisse. Die Kontraktionsamplitude war gewöhnlich bei frischfutterer nährten kräftiger als bei denen, die über Wochen Trockenfutter bekommen hatten. Die Tiere wurden durch Nackenschlag getötet, auf ein Präparationsbrett gespannt und nach Medianschnitt und nach Abpräparation des Felles die Bauchhöhle und der Thoraxraum eröffnet. Nach Abtrennung der Lungen, der Ventrikel und der Gefäße kamen die Herzvorhöfe in n-Tyrodelösung und wurden hier vom restlichen Bindegewebe und von den Gefäßen befreit.

Nährlösung:

Als Nährlösung wurde Tyrodelösung folgender Zusammensetzung verwandt (Alle Substanzen "Merck" p.a.):

NaCl	0,8	%
KCl	0,02	%
CaCl ₂	0,02	%
MgCl ₂	0,01	%
NaHCO ₃	0,1	%
NaH ₂ PO ₄	0,005	%

Der Glukosegehalt war 15 mMol. Das pH bei Durch-
perlung mit 95 % O₂ und 5 % CO₂, pH 7,1-7,2 (geprüft mit
dem pH - Meter der Firma K n i c k). Die Temperatur
der Lösung war in allen Versuchen auf 30° C_e eingestellt.

Verwendete Substanzen :

Sedaraupin	Boehringer
(Ampullen zu je 0,25 mg in 1 ml Inj. Lsg.)	
Thyroxin	Hoechst
Tri-jodthyronin	Hoechst
Reserpin (krist.)	Merck
Äthanol p.a.	Merck
C ₆ - Hexanoat	
(äquivalente Mengen NaOH (Merck) + Capronsäure (Riedel de Haen), durch Alkohol (DAB 6) das Salz ausgefällt = Natrium-capronat, dieses in Alkohol und Wasser umkristallisiert und getrocknet).	
dl-β-Oxy-n-buttersäure	Schuchardt
Persantin ^(R) = Dipyridamol	Thomae
2,6 Bis(diäthanolamino)-4,8-dipiperidino-pyrimido (5,4-d)pyrimidin	
g-Strophanthin (reinst, krist.)	Merck
Suprarenin ^(R) (Adrenalin)	Hoechst
CFP 2/D Glucose C ¹⁴ U	} Radiochemical Centre, Amersham, Buckinghamshire, England
(Batch 132 spez. Akt. 3,9 mC/mM)	
CFB 2/D Glucose C ¹⁴ U	
(Batch 133 spez. Akt. 2,9 mC/mM)	

II B) Bestimmung der Herzvorhofarbeit :

B 1) Versuchsanordnung : (Abb. 1)

Die Herzvorhöfe (H.V.) wurden an den Herzrohr - spitzen so befestigt, daß jeweils der linke H.V. in eine Plexiglashalterung geklemmt und der rechte an einer Serfine aus einer Platin - Silber - Legierung fixiert wurde. Die Aktionen wurden über eine 16,5 cm lange Feder, an deren fixiertem Ende 2 Dehnungsmeßstreifen befestigt waren, registriert. Da das System geschlossen sein mußte, wurden die Aktionen über eine Achse, die mit Mikrokugel - lagern in die Plexiglashalterung eingepackt war, und zwei Rädchen vom gleichen Durchmesser von 7,1 mm, die innerhalb und außerhalb der Kammer auf die Achse gesetzt waren, nach außen geführt. Die Kugellager wurden mit einem Öltropfen (Knochenöl) jeweils vor Beginn der Versuche abgedichtet. Die beiden Dehnungsmeßstreifen an der Ober- und Unterseite der Feder waren gegeneinander geschaltet. Die Widerstandsänderungen bei Dehnung und Erschlaffung der Feder wurden über eine Philips - Meßbrücke (Modell PR 93/2) auf einen 2 fach - Direktschreiber "Oscilloscript" (Philips - System Schwarzer) übertragen.

B 2) Eichung der Feder :

Zur Berechnung der Arbeit des Herzvorhofes war eine genaue Aufnahme der Korrelation Spannung - Weg der Feder notwendig. Da die Wegstrecken relativ klein sind, wurden die Auslenkungen der Feder bei der Belastung mit verschiedenen Gewichten mit Hilfe eines Projektors vergrößert. Die Auslenkungen wurden bei 0,5 - 5 g in Abständen von jeweils einem halben Gramm gemessen. Es ergab sich in dem gemessenen Bereich eine klare lineare Beziehung zwischen Auslenkung und Spannung (Abb. 2, Tab. 1).

B 3) Die Übertragung der Federauslenkung über den Dehnungsmeßstreifen auf den Direktschreiber :

Die Auslenkung der Feder mit einem Gramm Belastung führte an der Brücke zu einer Auslenkung von 7,5 Skalentellen. Die Ausschläge am Direktschreiber wurden bei der

Tabelle 1

Auslenkung der Feder

Gemessene Auslenkung der Feder - 41 fache Vergr. in cm

Messung:

Belastg.	I		II		III		IV		V		VI	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
0,5	3,50	3,50	3,40	3,40	3,30	3,30	3,35	3,35	3,60	3,60	3,30	3,30
1,0	3,45	6,95	3,45	6,85	3,45	6,75	3,35	6,70	3,70	7,30	3,35	6,65
1,5	3,50	10,45	3,35	10,30	3,40	10,15	3,35	10,05	3,70	11,00	3,40	10,05
2,0	3,50	13,95	3,50	13,80	3,50	13,65	3,45	13,50	3,75	14,75	3,35	13,40
2,5	3,55	17,50	3,60	17,40	3,45	17,10	3,55	17,05	3,40	18,15	3,35	16,75
3,0	3,60	21,10	3,50	20,90	3,35	20,45	3,50	20,55	3,40	21,55	3,55	20,30
3,5							3,50	24,05	3,50	25,05	3,40	23,70
4,0							3,60	27,65	3,55	28,60	3,50	27,20
4,5							3,50	31,15	3,60	32,20	3,45	30,65
5,0							3,55	43,70	3,60	35,80	3,45	34,10
$s = 21,10 \text{ cm}$							$s = 34,70 \text{ cm}$		$35,80$		$34,10 \text{ cm}$	
21,10 cm							34,70 cm					
20,90 cm							35,80 cm					
<u>20,45 cm</u>							<u>34,10 cm</u>					
$62,45 \text{ cm} : 3 = 20,81 : 41 = 5,078 : 3 = 1,69 \text{ mm}$							$104,60 \text{ cm} : 5 = 20,81 : 41 = 5,071 : 3 = 1,69 \text{ mm}$					
$1 \text{ g} = 1,69 \text{ mm Auslenkung}$							$1 \text{ g} = 1,69 \text{ mm Auslenkung}$					

a) = Gemessene Auslenkung bei 0,5 g Belastungszuwachs
 b) = Gesamtauslenkung vom Nullpunkt

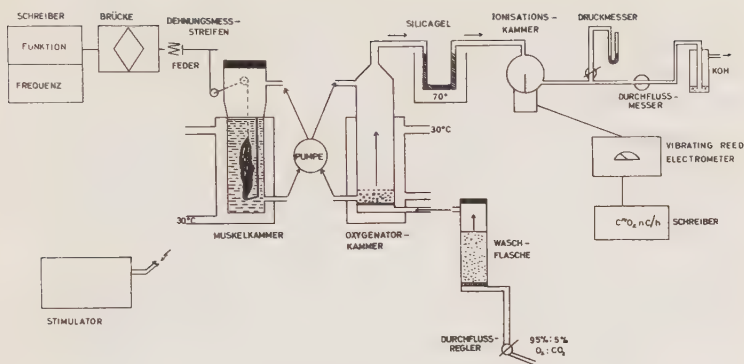


Abb. 1

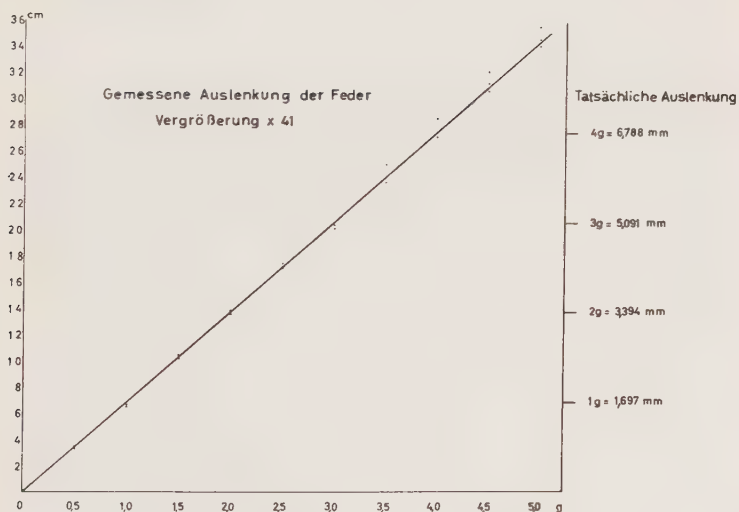


Abb. 2

Empfindlichkeit $E = 3 \times 10^{-1}$ und 1×10^{-1} registriert. Sie erfolgen linear. Die Beziehungen zwischen einer Spannungsänderung der Feder und dem Ausschlag am Direkt - schreiber bei den zwei genannten Empfindlichkeitsstufen sind aus der Tabelle 2 zu entnehmen.

Die Frequenz des Herzvorhofes wurde im zweiten Kanal des Direktschreibers parallel zu den Kontraktions - amplituden aufgezeichnet; die Einzelimpulse hierzu hinter der Meßbrücke abgenommen und von einem Ratemeter der Firma Philips integriert. Normalerweise schlugen die Herzvorhöfe spontan. In einigen Versuchen wurden die H.V. mit dem Stimulator der Firma Netheler und Hinz, Hamburg, elektrisch gereizt. In der Regel wurden die Reize von 5 mA Stärke und 1 - 2 msec. Dauer bei wechselnder Frequenz über 2 Platin - elektroden am Fuß der Halterung (Elektrodenabstand 1 mm) bei einem inneren Widerstand von 100 Kilo - Ohm benutzt. Bei intaktem Schrittmacher des H.V. war es nur bei höherer Frequenz möglich, dem H.V. einen anderen Rhythmus auf - zuzwingen. In besonderen Fällen wurde der Sinusknoten durch Quetschung mit der Pinzette ausgeschaltet und dann elektrisch gereizt.

B 4) Berechnung der Arbeit des Herzvorhofes :

Die Arbeit des Herzmuskels in vivo ist der regi - strierten Arbeit gegen eine Feder hinsichtlich der Span - nungs- und Wegeverhältnisse ähnlich. In Vivo kommt es in der Kammer zuerst unter sehr geringer Verkürzung des Hohlmuskels gegen stark ansteigenden Druck (ähnlich dem zunehmenden Widerstand der Feder) zur sogenannten iso - metrischen Tonuszunahme. Wenn dieser den Blutdruck im Gefäßsystem erreicht hat, öffnen sich die Klappen, und unter sichtbar starker Verkürzung gegenüber weiter an - steigendem Druck wird die Flüssigkeit ausgeworfen. Im ersten Fall handelt es sich vergleichsweise um Arbeit gegen eine Feder mit großem ΔP bei kleinem Δs , im zweiten Fall um Arbeit gegen eine Feder mit kleinem ΔP bei großem Δs .

$$\frac{\Delta P}{\Delta s} = \text{groß (isometrischer Typ)}$$

$$\frac{\Delta P}{\Delta s} = \text{klein (isotonischer Typ)}$$

In vitro spielt sich die Kontraktion des H.V. gegen eine Feder in der Versuchsanordnung so ab :

Eine Spannung (in unseren Versuchen in der Regel ein g) ist vorgegeben, unter der der Muskel in der Diastole steht. Bei der Kontraktion erhöht sich diese Spannung mit zunehmender Auslenkung der Feder. Diese Auslenkung ist im Verhältnis zur Spannungszunahme gering und nähert sich dem isometrischen Typ (großes ΔP bei kleinem Δs ($\frac{\Delta P}{\Delta s} = \text{groß}$)).

Die Arbeit, die der H.V. bei der Auslenkung einer Feder pro Schlag ausführt, ergibt sich aus der Vorspannung x , der Auslenkung $\bar{y}$ und der sich während der Auslenkung erhöhenden Spannung y . So beträgt die Arbeit $W = x \cdot \bar{y} + y \cdot \frac{\bar{y}}{2}$. (Abb. 3 - Tab. 2).

II C) Messung der Decarboxylierung C^{14} - markierter Substrate mit Hilfe der Ionisationskammer von Cary und einem Direktschreiber :

1.) Prinzip :

Durch die Ionisationskammer wird ein Gasgemisch von 95 % O_2 und 5 % CO_2 geleitet und mit Hilfe einer angelegten 90 Volt - Spannung zwischen der Kugeloberfläche und dem isolierten Stab im Inneren der Kugel der Minimalstrom gemessen, der sich aus den bei dem radioaktiven Zerfall von C^{14} entstehenden Elektronen ergibt. Voraussetzung ist, daß das Gas vorher getrocknet wurde und mit gleichbleibender Durchflußgeschwindigkeit die Kammer passiert. Die Spannungsänderungen wurden mit einem hochempfindlichen Vibrating Reed - Elektrometer (Cary Applied Physics Corporation Monrovia, California) bei einem Widerstand von $1,4 \times 10^{12}$ Ohm in mV gemessen und auf einen Direktschreiber (Texas Instruments, Houston, Model 8415) übertragen.

Gibt man in die Nährlösung C^{14} - markierte Substrate, so werden nach Metabolisierung durch den H.V. gasförmige C^{14} - Metabolite, praktisch ausschließlich $C^{14}O_2$, von dem durchperlenden Carbogenstrom ausgetrieben,

Berechnungsgrundlagen für die Herzvorhofarbeit

Feder

Spannungsänderung ΔP mg	Auslenkung Δs mm	Messbrücke Skalenteile	Ausschläge am Direkt- schreiber $E = 3 \cdot 10^{-1}$ $E = 1 \cdot 10^{-1}$
500 mg	0,846 mm	3,75 Sklt.	y'' 10 mm = 1 cm
1000 mg	1,697 mm	7,50 Sklt.	y'' 20 mm 60 mm
$\frac{1000}{6}$ mg = 166,6 mg	$\frac{1,697}{6} = 0,283$ mm		y' 10 mm = 1 cm
2 · 166,6 mg	2 · 0,283 mm		y' 20 mm = 2 cm
3 · 166,6 mg	3 · 0,283 mm		y' 30 mm = 3 cm
$y' \cdot 166,6$ mg	$\bar{y}' \cdot 0,283$ mm		y' cm

Arbeit pro 1 Kontraktion: $W_s = x(\text{mg}) \cdot \bar{y}(\text{mm}) + \frac{y \cdot \bar{y}}{2} (\text{mm mg})$

x = Vorspannung, $\bar{y}$ = Auslenkung der Feder bei Kontraktion, y = Zusatzspannung bei Kontraktion.
Beispiel: Vorspannung $x = 1000$ mg

Kontraktionsamplitude auf Schreiber bei Empfindlichkeit $1 \cdot 10^{-1}$ $y' = 2$ cm

$$y = 2 \cdot 166,6 \text{ mg} \quad (y' \cdot 166,6 \text{ mg})$$

$$\bar{y} = 2 \cdot 0,283 \text{ mm} \quad (\bar{y}' \cdot 0,283 \text{ mm})$$

A) Arbeit pro Schlag:

$$W_s = 1000 \text{ mg} \cdot (2 \cdot 0,283) \text{ mm} + \frac{(2 \cdot 166,6) \text{ mg} \cdot (2 \cdot 0,283) \text{ mm}}{2} = (566 + 94,3) \text{ mm mg} = 660,3 \text{ mm mg}$$

B) Arbeit pro Stunde = $W \cdot F/\text{min} \cdot 60$ ($F = 100/\text{min}$)

$$W_h = 660,3 \cdot 100 \cdot 60 \text{ mm mg/h} = 3961800 \text{ mm mg/h} = 396,18 \text{ cmg/h}$$

Allgemein: $W_s = (y' \cdot 1000 \cdot 0,283) \text{ mm mg} + y'^2 \frac{166,6 \cdot 0,283}{2} \text{ mm mg}$

$$= (y' \cdot \text{cm}) \cdot 283 \text{ mm mg} + (y'^2 \cdot 23,57) \text{ mm mg} \quad (\text{bei } 1 \text{ g Vorspannung})$$

$$W = \left(x \cdot \bar{y} + \frac{y \cdot \bar{y}}{2} \right) \text{ mm mg}$$

x = VORSPANNUNG mg

$\bar{y}$ = FEDERAUSLENKUNG IN mm UNTER y mg KONTRAKTIONSZUSATZSPANNUNG

y = KONTRAKTIONSZUSATZSPANNUNG mg

$$E_{\min} = W \cdot F \text{ cmg/min}$$

$$E_h = E_{\min} \cdot 60 \text{ cmg/h}$$

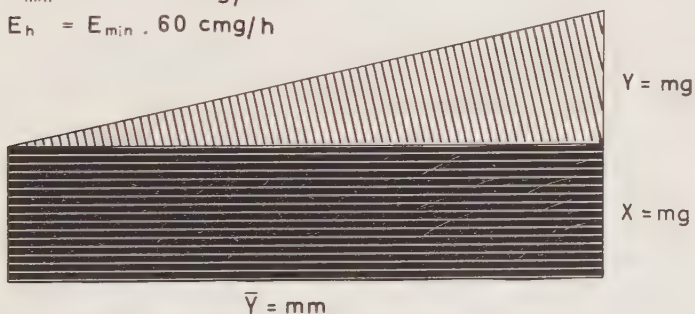


Abb. 3

Durch einen Überschuß an inaktivem CO_2 im durchperlenden Gas wird dieser Vorgang wesentlich beschleunigt. Durchströmt man ausschließlich mit O_2 , so dauert es Stunden, bis ein Gleichgewicht erreicht ist, und schnelle Änderungen sind nicht verfolgbar. Die Stärke der Decarboxylierung wird mit Hilfe des Ionisationsstromes registriert.

2.) Versuchsanordnung: (Abb. 1, 4, 5)

In der Arbeit von K. Müller wurde die Oxygenierung und die Austreibung von CO_2 in der Muskelkammer direkt durchgeführt. Dies hatte den Vorteil, daß mit weniger Nährlösung (2 - 3 ml) bei einer Aktivität von $1 \mu\text{C C}^{14}(\text{u})\text{-Glu - kose}$ pro ml Nährlösung gearbeitet werden konnte. Ein weiterer Vorteil bestand in einem raschen Einstellen des Gleichgewichts, Änderungen im Verbrauch konnten schneller registriert werden, da die vorbeiperlenden Gasblasen den Austausch zwischen dem Herzvorhof und der umgebenden Nährlösung beschleunigten.

Nachteile ergaben sich aus einer gestörten Registrie - rung der Herzaktionen, die durch das niedrige Flüssigkeits - volumen und die Schaumbildung bedingt waren. Außerdem wäre es unmöglich, zusätzlich den O_2 - Verbrauch des H.V. zu registrieren. Aus diesen Gründen wurde in dieser Arbeit untersucht, ob es prinzipiell möglich ist, ohne schwer - wiegende Nachteile eine Änderung der Versuchsanordnung dahingehend vorzunehmen, daß man eine Trennung in Muskel - kammer und Oxygenatorkammer vornimmt, um später durch zwei O_2 - Elektroden zusätzlich zur Decarboxylierung auch den O_2 - Verbrauch zu bestimmen (Abb. 1).

3.) Muskelkammer: (Abb. 4)

In ähnlicher Weise wie in der alten Versuchsanord - nung wurde der Herzvorhof, wie bereits beschrieben, an einer Plexiglashalterung in die Muskelkammer gehängt (Abb. 4). Diese faßte ca. 2,5 - 3 ml Flüssigkeit. Die oxygenierte und von aktivem C^{14}O_2 weitgehend befreite Nährlösung wurde

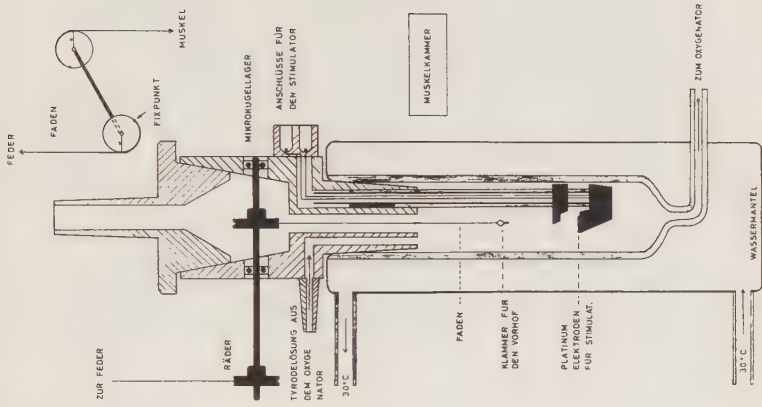


Abb. 4

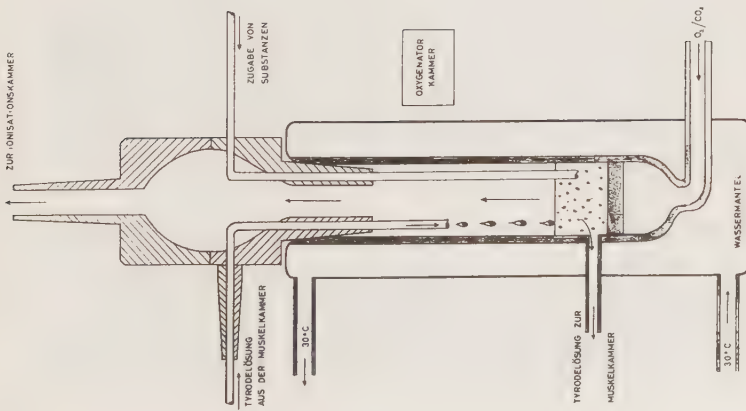


Abb. 5

mittels einer Stempelpumpe (Hans Heideloph, Schwabach, Getriebetype RZG stufenlos regelbar) und Mikroschläuchen am oberen Ansatzstück der Plexiglashalterung hineingepumpt. Vom Boden saugte die gleiche Pumpe die mit aktivem $C^{14}O_2$ beladene und an Sauerstoff verarmte Nährlösung wieder ab. Die Verbindungsstücke von der Muskelkammer über die Stempel - pumpe zur Oxygenatorkammer und zurück bestanden aus Polyaethy - len - Mikroschläuchen von 0,5 mm Innendurchmesser und 1 - 2 mm Wandstärke (Firma Netheler und Hinz, Hamburg). Die Förder - leistung der Pumpe betrug 6,5 ml pro min. Da in das ganze System 5 ml Nährlösung gegeben wurde (ca. 0,5 ml in die Oxygenatorkammer, ca 2 ml in die Muskelkammer, Rest im Schlauchsystem) wurde die Flüssigkeit in ca. 45 sek. einmal umgetrieben.

4.) Oxygenatorkammer (Abb. 5)

Die Muskelkammer als auch die Oxygenatorkammer hatten eine lichte Höhe von 3,5 cm und einen Durchmesser vom 1 cm. Mit Hilfe von Mikroschläuchen wurde die mit $C^{14}O_2$ ange - reicherte und im Sauerstoffdruck verminderte Nährlösung von oben über einen Plexiglaseinsatz bis in die Mitte der Oxygenatorkammer geleitet (Abb. 5). Hier erfolgte der Austausch durch das entgegenperlende Gasgemisch aus 95 % O_2 und 5 % CO_2 . Es wurde unten von der oben genannten Stempelpumpe abgesaugt. Die Polyaethylen - Mikroschläuche waren mit Silikonschläuchen als Schaltstücke an die ent - sprechenden Teile angeschlossen. Nachteilig wirkte sich das gelegentliche Ansaugen von Gasblasen aus der Oxygenatorkammer aus, die das Druckgleichgewicht störten. Daher wurden Muskel - kammer und Oxygenatorkammer zum Druckausgleich mit einem Mikroschlauch verbunden. In die Oxygenatorkammer führte ein zweiter Mikroschlauch zum Einbringen von Substanzen.

5.) Gasdurchfluß: (Abb. 1)

Das Gasgemisch aus einer Stahlflasche wurde nach Druckminderung auf 1 - 1,5 atü durch einen Gasdurchfluß - regler der Firma Krohne in konstantem Fluß von 45 ml pro min. gehalten, entsprechend den Versuchen von K. Müller,

anschließend in einer Waschflasche durch Aqua dest. geleitet und hier mit Wasserdampf angereichert, um eine Austrocknung des Systems zu vermeiden. Nachdem das Gas eine G 3 - Fritte passiert hatte, gelangte es in die Oxygenatorkammer, durchströmte sie und wurde in ein U - Rohr geleitet, das mit gewaschenem Kieselgel (Firma Merck - 3 - 4 mm) gefüllt war. Das Kieselgel, auf 70° C. erhitzt, ermöglichte eine maximale Trocknung des Gases. Daraufhin gelangte es in die Ionisationskammer und verließ sie mit einem Druck von 28 - 33 mm Wassersäule. Ein Durchflußmesser hinter der Kammer kontrollierte den konstanten Durchfluß und die Dichte des Systems. Danach wurde es durch hochprozentige Kalilauge geleitet, um hier von aktivem und inaktivem CO₂ befreit zu werden und gelangte daraufhin ins Freie.

6.) Ionisationskammer : (Abb. 1)

Die Ionisationskammer hatte ein Volumen von 250 ml (Cary 3097 A). Bei einem Gasangebot von 45 ml pro min. ist die Kammer nach ca. 5 min. gefüllt. Nimmt man einen Verdünnungsfaktor von 3 an, so ist nach ca. 15 min. das System von der eingebrachten Aktivität praktisch befreit, was experimentell bestätigt wurde. An die Kammer war eine Spannung von 90 Volt gelegt. Sie arbeitet auf der höchsten Empfindlichkeitsstufe (4) = $1,4 \times 10^{12}$ Ohm $\pm$ 2 %. Auf der Galvanometerskala war der 100 mV - Bereich gewählt. Der Untergrund war auf 0 eingestellt. Die Übertragung der Ausschläge des Galvanometers erfolgte auf einen Direktschreiber der Fa. Texas Instruments, Houston, Model 8415. Die Papiergeschwindigkeit betrug 1,91 cm pro 15 min. (inch - System).

7.) Eichung mit Na₂C¹⁴O₃ :

a) Abhängigkeit von Puffer und Gasgemisch :

Die Stärke des Ionisationsstromes eines getrockneten radioaktiven Gases, das durch die Ionisationskammer geleitet wird, hängt von der Art der Strahlung (α , β , γ),

von der Menge, von der Geschwindigkeit des Gasdurchflusses und von der Höhe des Druckes in der Kammer ab. Der Durchfluß und der Druck wurden durch die beschriebenen Kontrollen konstant gehalten.

Um Eichwerte mit $C^{14}O_2$ zu gewinnen, wurden in die Nährlösung abgestufte Mengen von Standard $Na_2C^{14}O_3$ gegeben und Eichwerte für 10 - 80 nC $C^{14}O_2$ aufgenommen. Gibt man aktive $Na_2C^{14}O_3$ in n - Tyrode, die einen $NaHCO_3/NaH_2PO_4$ - Puffer enthält, so tauscht sich entsprechend dem Gleichgewicht das im Überschuss vorbei strömende, inaktive CO_2 mit dem aktiven $C^{14}O_2$ aus. Beeinflusst wird dies durch chemische Gleichgewichte, die vom pH der Nährlösung abhängen : Durch die Anwesenheit eines Bicarbonatpuffers wird der Austausch naturgemäß verlangsamt. Wird das pH zur sauren Seite verschoben, so erfolgt der Austausch rascher, was zu einer kurzfristigen Erhöhung der $C^{14}O_2$ - Konzentration und damit zu einer Erhöhung des Ionisationsstroms führt. Umgekehrt wird im alkalischen Milieu durch Verschiebung zu Na_2CO_3 dieser Vorgang verlangsamt. Es ist zu erwarten, daß in bicarbonat - freier Nährlösung der Austausch rascher erfolgt, weil hier ein Austauschsystem fehlt und jedes $C^{14}O_2$ sich ohne weitere chemische Gleichgewichte mit dem vorbeiströmenden Gas umsetzen kann. Es wäre danach ein Phosphatpuffer mit Carbogendurchperlung ideal. Die Schwierigkeit besteht aber darin, daß eine normal auf pH 7,1 reine PO_4 - gepufferte Tyrodelösung (molar 1/150) durch das Carbogen auf pH 6,6 verschoben wird, was zum Sistieren der Aktionsfähigkeit führt. Eine vorherige Einstellung des Puffers auf pH 7,8 bis 8,0 führt zum Ausfall von Calciumphosphat, was ebenfalls die Aktionsfähigkeit zum Erliegen bringt. Es besteht noch die Möglichkeit, zunächst eine calciumfrei auf pH 7,8 - 8,0 gepufferte p - Tyrode in das System einzubringen und nach der Verschiebung des pH durch das Carbogen auf pH 7,1 - 7,2 das Calcium zuzugeben. Dies wurde versucht, brachte aber keine wesentlichen Vorteile. Die Geschwindigkeit des Austausches im Bicarbonat/Phosphatpuffer weicht nicht wesentlich (1 - 2 min.) vom Phosphatpuffer ab.

b) Abhängigkeit von der Trocknung des Gasgemisches :

Wie sich im Verlauf der Versuche zeigte, ergab sich ein entscheidender Störfaktor bei der Trocknung des Gasstromes in Kieselgel. Das verwendete Blaugel der Fa. Merck, Korngröße 1 - 3 mm, ergab je nach Trocknungsgrad bei gleichbleibender Farbintensität des Blauindikators Abweichungen in den Eichkurven. War das Blaugel frisch im Wärmeschrank bei 180° C. getrocknet, so war die Latenzzeit der Aufzeichnung bei Zugabe von $C^{14}O_2$ kürzer, der Gipfel wurde rascher erreicht, war höher als sonst beobachtet und die Abklingzeit verkürzt. Zunächst unerklärlich war, daß auch im frischen Kieselgel nach dem Auslaufen der beiden Fritten Ausschläge am Galvanometer beobachtet wurden. Es wurde daran gedacht, daß die Schläuche oder die Dichtungsmittel (Fett) aktives $C^{14}O_2$ aufnehmen, das später vom vorbeiströmenden Gas mitgerissen wurde, zumal ein Unterschied bestand, ob im Umlaufsystem Wasser oder bicarbonatgepufferte Lösungen vorhanden waren. Nur im letzten Fall waren Galvanometeraus-schläge festzustellen, welche eine Scheinaktivität vor-täuschten. Mit völlig neuem Schlauchmaterial und getrocknetem Kieselgel wurden 5 ml inaktive n - Tyrode einige Zeit in Umlauf gebracht und durchströmt, wobei die 0 - Lage konstant blieb. Wurde dann das System entleert, so kam es fast regelmäßig zu stärkeren Ausschlägen in Form von "Peaks" nach 15 - 30 min., die damit nicht auf radioaktiv bedingten Stromänderungen beruhen konnten (siehe S. 14).

Aus diesen Gründen wurde versucht, die Trocknung des Gasstromes zu modifizieren.

1.) $CaCl_2$:

Die Trocknung über $CaCl_2$ ergab wohl einen schönen ersten Anstieg der Eichkurve mit sehr rascher Rückkehr zur Basis, doch zeigte sich mit zunehmender Dauer der

Gasdurchströmung, daß das feuchter werdende CaCl_2 CO_2 adsorbierte, das nach Leerlaufen des Systems in zunehmendem Maße zu Störspannungen führte, die das System für längere Versuche ungeeignet machten.

2.) Kühlfalle :

Als weitere Möglichkeit der Trocknung des Gases, ohne Adsorption von CO_2 befürchten zu müssen, wurde die Wasserkühlfalle im Methanolbad (- 50°C.) versucht. Schwierigkeiten bestanden darin, daß der Totraum einer - seits sehr klein gehalten werden sollte, auf der anderen Seite aber die Luft völlig getrocknet werden mußte, da ein An/steigen der Feuchtigkeit in der Kammer sofort von Ausschlägen am Galvanometer begleitet waren. Bei der Erprobung von verschiedenen Rohrweiten und -längen zeigte es sich, daß entweder das Gas getrocknet, dafür aber durch eine schnelle Vereisung - nach 15 - 30 min. - das System verstopft war oder bei weiten Röhren der Totraum so groß war, daß keine ausreichende Trocknung erzielt werden konnte oder die Latenzzeit zu groß wurde.

3.) Kieselgel :

Es wurden nun eingehende Untersuchungen mit Kiesel - gel unternommen. Dabei wurde beobachtet, daß die Eich - kurven nach einem Erhitzen von normalem Blaugel auf 70°C. am besten ausfielen, weil offensichtlich dabei die CO_2 - Adsorption am feucht-werdenden Kieselgel weitgehend ver - hindert wurde. Dagegen wurden nach Leerung des Systems die bekannten unerklärlichen "Peaks" auch weiterhin beobachtet. Dies konnte schlagartig beseitigt werden, nachdem das Kieselgel in n - Salzsäure gründlich von den Kobaltsalzen des Blauindikator befreit worden war. Das über Tage in Aqua dest. gewaschene und dann bei 180°C. getrocknete feinkörnige, nunmehr weiße Kieselgel zeigte bei Versuchen über 8 Stunden erst nach 4 - 5 Stunden einen prozentual zu vernachlässigenden Anstieg der Basislinie als Zeichen einer beginnenden Insuffizienz der Wasseradsorption. Nach Leerung des Systems wurden keine Ausschläge mehr am Galvanometer beobachtet. Durch welche nichtaktiven Verunreinigungen im Blaugel diese gestei - gerte Ionisierung in der Kammer hervorgerufen wurde, muß

zunächst noch offen bleiben. Da sich die Stromschwankungen (Peaks) so verhielten, als ob aus der Kieselgelsäule eine Substanz ausgetrieben werden würde, wäre daran zu denken, daß im feuchter werdenden Blaugel sich aus den Kobaltsalzen Kobaltcarbonat bilden könnte, das dann evtl. einen freiwerdenden, gasförmigen Partner des Kobaltsalzes (NO_2^{--}) austreiben würde, der dem Gasstrom beigemischt wird und in der Kammer die Ionisationssteigerung verursachen könnte.

c) Prüfung der Schlauchsysteme :

Von Silikonschläuchen ist es bekannt, daß sie in gewissem Umfang für O_2 und CO_2 (als Gas) durchlässig sind. Beim Vergleich dieser Eichkurven mit denen der anderen Schlauchsysteme ergab sich, daß mit Silikonschläuchen der Gipfel geringfügig später erreicht wird und etwas längere Zeit zum Abklingen braucht. Der Flächeninhalt ist aber gleich, so daß nennenswerte Mengen nicht verloren gehen, wohl aber geringe Mengen vom Schlauchsystem adsorbiert werden und erst allmählich wieder abgegeben werden.

Die besten Werte ergaben Polyäthylenschläuche. Da für die Stempelpumpe aber elastisches Schlauchmaterial nötig war, mußte hier zum Silikonschlauch als günstigem Material zurückgegriffen werden. Andere Schläuche (Butyl - kautschuk, Gummi) waren nicht elastisch genug oder wurden in kurzer Zeit durch die Pumpe zerrieben, bzw. gingen kleine Bruchstücke des Schlauchs in Lösung und verstopften die Mikroschläuche.

d) Abhängigkeit der Eichkurven vom Flüssigkeitsvolumen in der Oxygenatorkammer :

Um festzustellen, inwieweit die Höhe des Flüssigkeitsspiegels in der Oxygenatorkammer von Bedeutung ist, wurden Eichkurven mit 0,5 und 1,0 ml aufgenommen. Als Schlauchmaterial diente Polyäthylen. Ein Unterschied konnte nicht festgestellt werden. Nur wenn in der Oxygenatorkammer praktisch keine Flüssigkeit war, änderte sich die Eichkurve. Der Anstieg wurde verzögert.

e) Eichkurven von $\text{Na}_2\text{C}^{14}\text{O}_3$ in n-Tyrode bei Einbringen in die Oxygenatorkammer mit und ohne Umlauf des Systems :
(Abb. 6, 7)

Nach Ausschaltung der oben genannten Störfaktoren wurden Eichkurven mit aufsteigenden Mengen nano Curie C^{14}O_2 gemacht.

Trockensystem : Gewaschenes und getrocknetes Kieselgel, das in einem Wasserbad auf ca. 70°C . erhitzt wurde. Die Tyrodelösung wurde mit Hilfe eines Thermostaten auf 30°C . gehalten. Die Durchlaufgeschwindigkeit der CO_2/O_2 - Mischung betrug 45 ml pro min. (Eichstrich 77 am Flowmeter vor der Oxygenatorkammer, hinter der Ionisationskammer 102 - 104).

Interessant ist, daß bei Eingabe von $\text{Na}_2\text{C}^{14}\text{O}_3$ in die Oxygenatorkammer ohne Zirkulation bei einer Flüssigkeitsmenge von 0,5 ml die gleichen Flächenwerte pro nano Curie erzielt wurden, wie bei der Zugabe im laufenden System, d. h. Zirkulation zwischen Oxygenatorkammer und Muskelkammer bei 5 ml Tyrode (Abb. 6 A u. 6B , 7). Nur die Höhe, der Zeitpunkt des Erreichens des Gipfels und das Abklingen waren durch das laufende System versehoben worden. Die Verschiebung des Gipfels betrug bei gleicher Durchflußgeschwindigkeit fast 100 %, d. h. von $6'10''$ auf $12'15''$. Das bedeutet, daß bei gleicher Durchflußgeschwindigkeit des Gases die Fläche ein Maß für die Gesamtmenge des durchströmenden C^{14}O_2 ist und die Form der Kurve zu vernachlässigen ist. Diese zeigt nur die Trägheit des Systems an, z. B. die Verzögerung der C^{14}O_2 - Austreibung durch die Umlaufpumpe.

8.) Berechnung des Glukose - Verbrauchs aus der C^{14}O_2
Decarboxylierung von Glukose : (Abb. 8)

Mit diesen Eichkurven läßt sich nun bei bekannter spezifischer Aktivität der vorhandenen Substrate (Glukose oder Fettsäure) bestimmen, wieviel Glukose pro Zeiteinheit verbraucht wurde. Nicht bestimmt werden

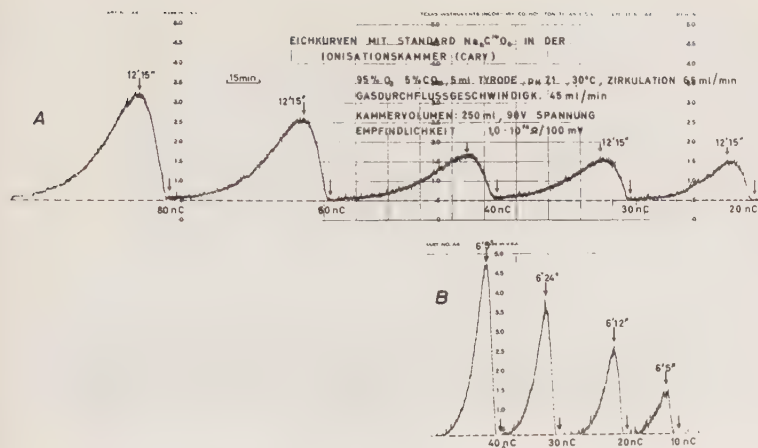


Abb. 6

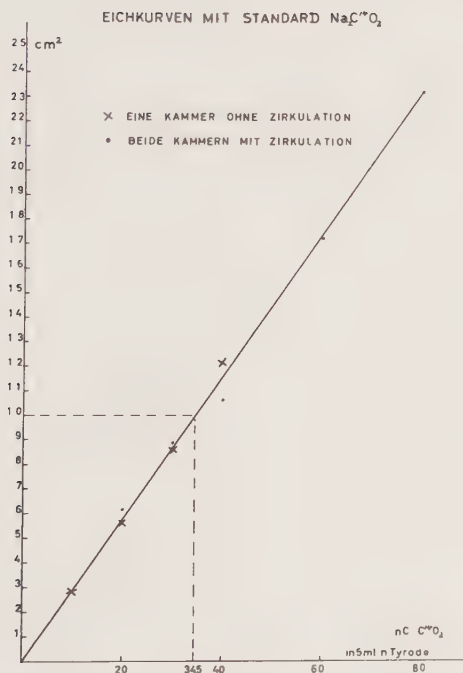


Abb. 7

kann, über welchen Weg die Verbrennung erfolgt. Es ist anzunehmen, daß ein Teil der C^{14} - markierten Glukose ins Glykogen eingebaut wird; nach Untersuchungen von WILLIAMSON ca. 3 - 5 %. Diese Aktivität tritt aber nicht als $C^{14}O_2$ aus. Der größte Teil dürfte über die aerobe Glykolyse in den Krebszyklus gelangen und dort decarboxyliert werden und nur ein kleiner Teil über den Pentose - phosphat - shunt gehen. Ein weiterer Teil dürfte in Fettsäure umgewandelt werden und später im Krebszyklus zur Verbrennung kommen. Dieses aktive CO_2 stammt aber sicher aus Glukose und gibt daher ebenfalls den Glukoseverbrauch an. Für die Auswertung des Substratverbrauchs ergeben sich folgende Berechnungsgrundlagen aus der Eichkurve (Abb. 7) :

$$\begin{aligned} 10 \text{ cm}^2 &= 34,5 \text{ nC } C^{14}O_2 \\ 1 \text{ cm}^2 &= 3,45 \text{ nC } C^{14}O_2 \end{aligned}$$

Das im Schreiber verwandte Papier war auf das inch - System geeicht. Die Breite eines Faches betrug 1,90 cm und entsprach 15 min., die Höhe 1,14 cm. Daraus ergaben sich $2,166 \text{ cm}^2$ für ein Fach. Für 4 Fächer = 60' folgende Werte : (Abb. 8)

$$\begin{aligned} 2,166 \text{ cm}^2 &= 7,47 \text{ nC } C^{14}O_2 \text{ pro 15 min.} \\ 4 \times 2,166 \text{ cm}^2 &= 29,89 \text{ nC } C^{14}O_2 \text{ pro 60 min.} \end{aligned}$$

In cm Höhe ausgedrückt ergibt sich daraus für 60 min. integriert :

$$\begin{aligned} 1,14 \text{ cm} &= 29,89 \text{ nC } C^{14}O_2 \text{ pro Stunde} \\ 1,00 \text{ cm} &= 26,219 \text{ nC } C^{14}O_2 \text{ pro Stunde.} \end{aligned}$$

Bei einer spezifischen Aktivität von 5000 nC C^{14} in 5 ml Tyrode (15 mMol Glukose) ergibt sich

$$5000 \text{ nC} \text{ -----} \rightarrow 75 \mu\text{Mol Glukose.}$$

1 nano Curie $C^{14}O_2$ entspricht dann :

$$\frac{75000 \text{ nMol Glukose}}{5000} = 15 \text{ nano Mol Glukose}$$

$$\begin{aligned} 1 \text{ cm Höhe} &= 26,219 \text{ nC/h} \times 15 = 393 \text{ nano Mol} \\ &= 0,393 \mu\text{Mol Glukose/h.} \end{aligned}$$

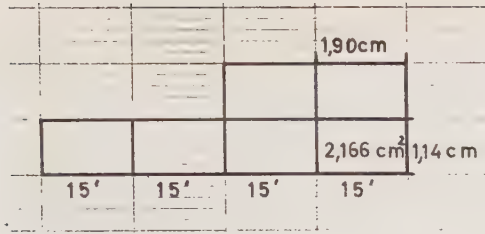


Abb. 8

M 51 DECARBOXYLIERUNG VON C^{14} -GLUKOSE IM ISOLIERTEN MEERSCHWEINCHENHERZVORHOF (183 mg FRISCHGEW.)
IN 5 ml TYRODE-LÖSUNG MIT STEIGENDER GLUKOSE-KONZENTRATION (spez. Aktiv. 1 μ C/15 μ M)

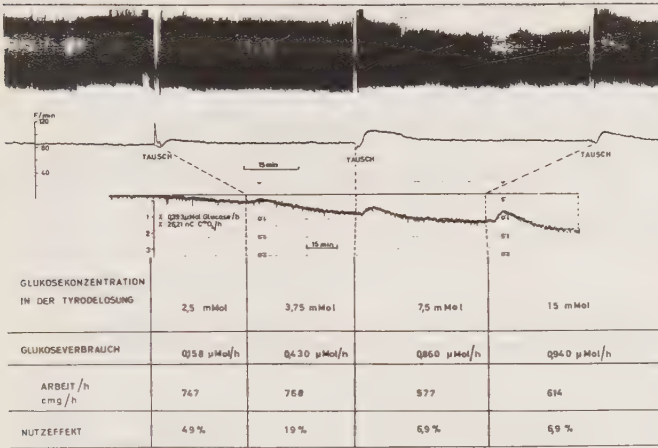


Abb. 9

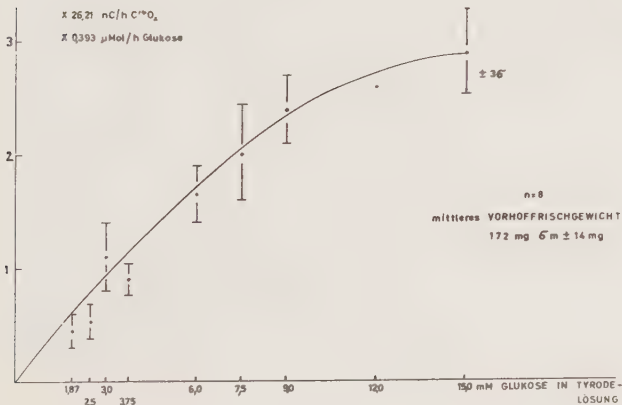


Abb. 10

9.) Berechnung des Nutzeffektes der verbrauchten Glukose :

Um ein absolutes Maß der tatsächlich geleisteten Arbeit und der zugeführten Energie aus der Glukoseverbrennung zu haben, wurde folgende Berechnung durchgeführt : Wenn bei einem Mol verbrannter Glukose 32 Mol ATP als durchschnittlicher Energiegewinn angenommen wird und der Kalorienwert von 1 Mol ATP = 7 Kalorien beträgt, so ergeben sich aus dem mechanischen Wärmeäquivalent (1 Kcal = 427 mkg) als der theoretische Energiegewinn bei 1 μ Mol verbrannter Glukose = 9565 cmg. Der Nutzeffekt der zugeführten Energie ergibt sich daraus :

$$N = \frac{\text{reale Leistung cmg/h} \times 100}{\text{zugeführte Energie cmg/h}} \quad \%$$

Diese Unterschiede lassen sich einfacher ausdrücken im Vergleich zwischen prozentualer Zunahme der Leistung und des Glukoseverbrauchs, wie es zum Teil in den Versuchen gehandhabt wurde.

III Versuchsergebnisse :

A) Glukoseverbrauch isolierter H.V. in Abhängigkeit von der Außenkonzentration an Glukose : (Abb. 9, 10)

In 8 Versuchen wurde die Glukosedecarboxylierung bei ansteigender Glukoseaußenkonzentration untersucht. Es wurde dabei so vorgegangen, daß der Herzmuskel zunächst in einer Tyrodelösung mit 15 mmolarem, inaktivem Glukose - gehalt ca. 30 min. zur Erholung inkubiert wurde. Danach wurde mit glukosefreier Tyrode 2 mal gespült und bei aufsteigenden C^{14} -Glukosekonzentrationen mit jeweils gleicher spezifischer Aktivität die Decarboxylierung bestimmt. Hatte sich ein Gleichgewicht eingestellt, wurde mit der nächst höheren Konzentration weiter gearbeitet. Um sicher gehen zu können, daß immer die gleiche spezifische Aktivität vorhanden war, wurde jeweils vor Versuchsbeginn aus 5 bzw. 10 ml einer 15 mM Glukoselösung (spezifische Aktivität 1 μ C/ 15 μ Mol), die jeweilige Konzentration durch Verdünnung mit glukosefreier Tyrodelösung hergestellt.

Mit zunehmender Glukosekonzentration stieg der Glukoseverbrauch an, während die Arbeit pro Stunde langsam absank. (Abb. 9). Berechnete man den Nutzeffekt der zugeführten Energie, so lag er bei der niedrigsten Glukosekonzentration von 2,5 mMol mit 49 % auffallend hoch. Das bedeutet, daß hier möglicherweise zur Aufrechterhaltung der Arbeit noch andere Stoffe wie Glykogen oder noch vorhandene endogene Fettsäuren verbrannt werden. Mit steigender Konzentration fiel der Nutzeffekt und lag bei 7,5 und 15,0 mMol auf gleicher Höhe von 6,9 %. Wertet man 8 gleichartig durchgeführte Versuche aus und trägt den Glukoseverbrauch des Herzmuskels gegenüber der Glukoseaußenkonzentration auf, so zeigt sich bei einer deutlichen Streuung, daß bei 15 mMol Glukoseaußenkonzentration Sättigung erreicht wurde. In der Kurve wurden die 3 σ -Grenzen eingezeichnet, um das Maß der Streuung der Einzelwerte zu veranschaulichen (Abb. 10).

B) Glukoseverbrauch bei Anwesenheit von Substraten des
Fettsäure - Stoffwechsels :

Gab man nach Erreichen des Decarboxylierungsgleichgewichtes einer 15 mmolaren Glukose - Tyrodelösung in steigenden Konzentrationen Na-salze nicht markierter Fettsäuren, z. B. C₆-Carbonsäure (Hexanoat) oder β -Hydroxybuttersäure (β -Hydroxybutyrat, β -OBS), so kam es ohne Veränderung der Arbeitsleistung zu einem deutlichen, gesetzmäßigen Absinken der Glukosedecarboxylierung. Diese erreichte ihr Maximum von rund 50 % bei 1 mMol Hexanoat in der Außenkonzentration. Weitere Zugaben zeigten keine nennenswerten Effekte mehr (Abb. 11).

Der Herzmuskel scheint die Fettsäureverbrennung vorzuziehen. Ob es sich um ein Zurückdrängen der Glukosedecarboxylierung durch die Fettsäure oder nur um eine Hemmung des Glukoseverbrauchs ohne gleichzeitigen Anstieg der Fettsäureverbrennung handelt, könnte nur durch einen Versuch mit C¹⁴-markiertem Hexanoat oder durch Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs und Herstellung einer Gesamtbilanz ermittelt werden. Für die erste Vermutung spricht, daß bei Auftragen auf halblogarithmischem Papier die

SENKUNG DER DECARBOXYLIERUNG VON C¹⁴-GLUKOSE UNTER EINWIRKUNG
VON HEXANOAT

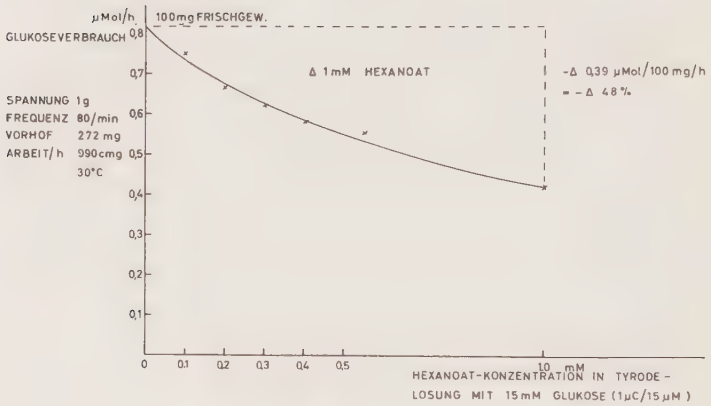


Abb. 11

M 82

SENKUNG DER DECARBOXYLIERUNG VON C¹⁴-GLUKOSE UNTER EINWIRKUNG
VON HEXANOAT

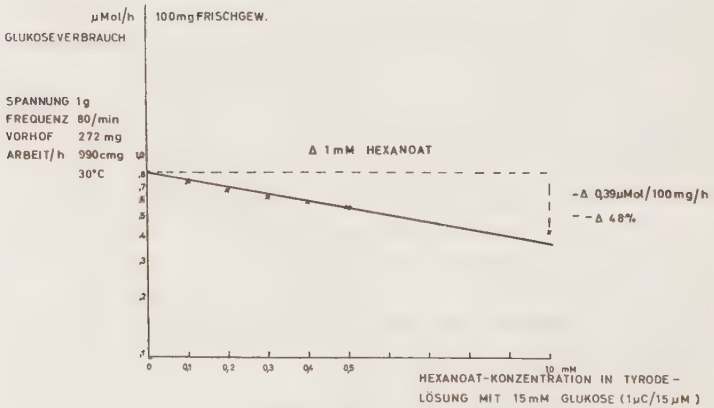


Abb. 12

Hemmung in einer Geraden verläuft und damit dem Line - weaver - Burk Verdrängungsmechanismus entsprechen könnte (Abb. 12). Bei 1 mMol Hexanoat wurde die Glukosedecarboxylierung um 50 % gesenkt. Weitere Erhöhung der Hexanoatkonzentration hatte keinen nennenswerten Effekt mehr.

In ähnlicher Weise wurde von K. Müller für die β -Oxybuttersäure eine Bevorzugung der Fettsäureverbrennung nachgewiesen. Die Außenkonzentration mußte hierbei allerdings wesentlich (30 mMol. dl- β -OBS) erhöht werden. Eigene Versuche ergaben, daß es bei einer Außenkonzentration von 15 mMol. dl- β -Oxybuttersäure nur zu einem Abfall der Glukoseverbrennung von etwa 35 % kam. Auch hier erfolgte bei stufenweiser Erhöhung der Außenkonzentration um 5 mMol. der Abfall im halblogarithmischen Papier linear und erreichte bei 15 mMol. seine Sättigung (Abb. 13). Der Schwerpunkt lag also bei gleichem Verhältnis der Außenkonzentration von Glukose/ β -Oxybuttersäure auf Seite der Glukose. In den Versuchen von K. Müller mit 30 mMol. dl-OBS Außenkonzentration und 16mMol. Glukose war eine Bevorzugung der Decarboxylierung von C^{14} -Hydroxybutyrat festzustellen. Die Verbrennung von Glukose unter β -OBS durch den Herzmuskel unterscheidet sich damit wesentlich von der Hexanoat - Einwirkung.

C) Glukoseverbrauch isolierter H.V. in Abhängigkeit von der Vorspannung und Arbeitsleistung : (Abb. 14)

Erhöhte man die Spannung bei gleichbleibender Frequenz und registrierte dabei die Leistung, so ergab sich die bekannte Starling'sche Kurve mit einem Leistungsmaximum bei 1 - 2 g Vorspannung (Abb. 14). Danach sank die Herzleistung steil ab. Der Glukoseverbrauch stieg bis zum Maximum in annähernd gleichem Verhältnis zum Leistungsanstieg mit an, so daß der Nutzeffekt konstant blieb. Nach Erreichen des Maximums stieg bei elektrisch gereizten H.V. der Glukoseverbrauch noch einmal deutlich an, während die Leistungen abnahmen. Die Folge war ein Absinken des Nutzeffektes. In den Versuchen, bei denen ohne elektrische Reizung

nur die Spannung erhöht wurde, zeigte sich nur anfänglich eine Steigerung der Glukoseverbrennung bis zum Maximum der Leistung, während weitere Belastung zu einem Absinken der Herzleistung und einer Verringerung der $C^{14}O_2$ - Entwicklung führte. Möglicherweise kann diese Divergenz dadurch erklärt werden, daß beim spontan schlagenden Herzmuskel mit zunehmender Spannung die Frequenz stark absinkt und sich damit die Stoffwechsel - lage ändert. Bekanntlich stehen Frequenz und Kontraktions - leistung in einer engen Beziehung. Eine Frequenzerhöhung führte stets zu einem starken Anstieg der $C^{14}O_2$ - Bildung.

D) Glukoseverbrauch und Leistung unter Einwirkung von Strophantin :

1.) Nutzeffekt und Frequenz : (Abb. 15, 16, 17, 18)

Die Leistungssteigerung des H.V. durch Zunahme der Kontraktionsamplitude unter nichttoxischen Strophanthin - dosen (5×10^{-7} g pro ml) zeigte sehr deutlich, daß sie immer wesentlich höher war als die Steigerung des Gluko - severbrauchs, solange die Frequenz nicht erhöht wurde. Es kam daher stets zu einer deutlichen Erhöhung des Nutz - effektes. Steigerte man auf dem Maximum der Leistung die Frequenz durch elektrische Reizung oder Zugabe von Adre - nalin oder Histamin (10^{-6} g pro ml), dann sank nach anfänglicher kurzer Leistungssteigerung die Amplitude sehr rasch, und es kam nach allmählicher Rückstands - kontraktur zum Stillstand (Abb. 15, 16). Dabei stieg zunächst der Glukoseverbrauch stark an, der Nutzeffekt sank dabei. Nach dem Stillstand ging die $C^{14}O_2$ - De - carboxylierung allmählich zurück. In einigen Versuchen trat unter der sonst nicht toxischen Dosis von Strophan - thin nach der anfänglichen, positiv inotropen Wirkung ohne Frequenzbeschleunigung spontan ohne äußere Ursache in einer zweiten Phase nach etwa 10 - 20 min. nach Er - reichen des Kontraktionsmaximums eine starke Frequenz - erhöhung auf, die dann sehr rasch zum Stillstand führte. Mit dem Absinken der Leistung kam es auch hier nach an - fänglicher Steigerung der Decarboxylierung zum Rückgang

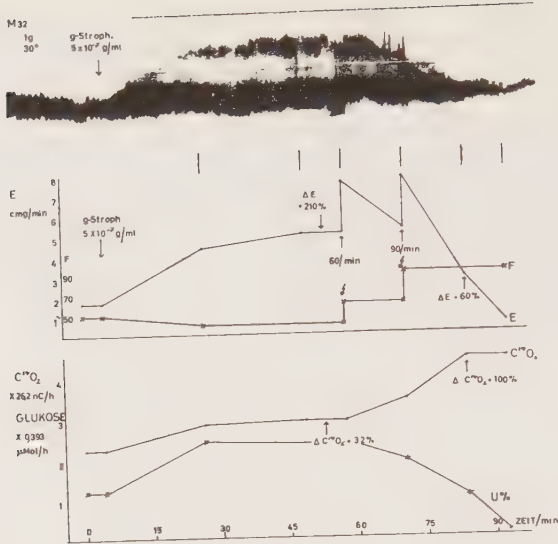


Abb. 15 -

M 52

NUTZEFFERT UND GLUKOSEVERBRAUCH
BEI NIEDRIGER C¹⁴-GLUKOSEKONZENTRA-
TION (2,5 mM) IN TYRODELOSION
SPEZ. AKT. 1 µC/15 µM
NACH g-STROPHANTHIN (5×10^{-4} g/ml)
UND ADRENALINZUGABE (10^{-6} g/ml)

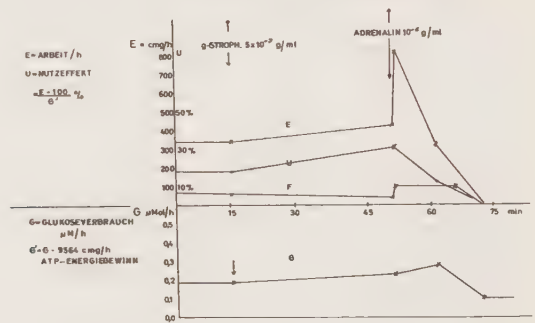


Abb. 16 -

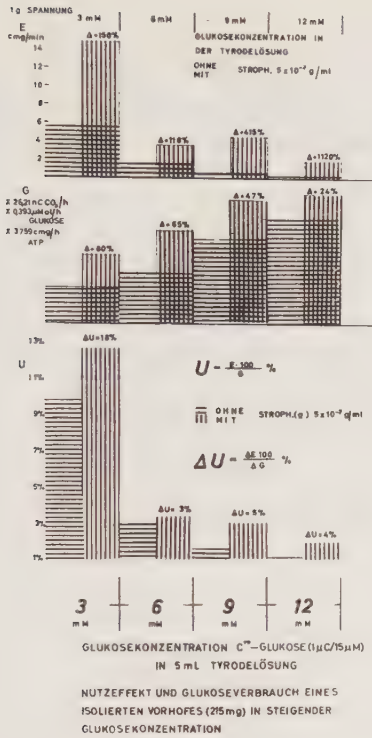


Abb. 17

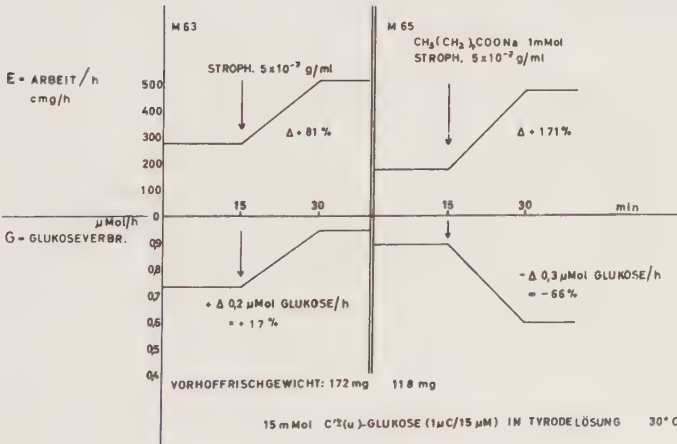


Abb. 18

auf die Ausgangslage.

2.) Nutzeffekt bei ansteigender Glukosekonzentration : (Abb. 17)

Von Interesse war das Verhalten von Leistungssteigerung und Glukoseverbrauch unter Strophanthin bei ansteigenden Glukosekonzentrationen in der Außenlösung. Im Versuch M 53 wurde so vorgegangen, daß am gleichen H.V. bei stufenweiser Erhöhung der Glukoseaußenkonzentration auf 3, 6, 9, 12 mMol (Abb. 17) die Leistung und der Glukoseverbrauch vor und nach Strophanthingaben bestimmt wurden. Nach dem jeweiligen Spülen mit der nächsthöheren Glukosekonzentration wurde eine Erholungspause von 1 Stunde eingehalten. Daraus erklärt sich das allgemeine Absinken der absoluten Arbeitsleistung. Die beobachtete Leistungssteigerung nach Strophanthin lag weit über der prozentualen Erhöhung des Glukoseverbrauchs. Bei allen vier Glukosekonzentrationen kam es also zu einem deutlichen Ansteigen des Nutzeffektes, der naturgemäß im Verlauf der Versuche durch die Ermüdung des H.V. geringer wurde. Bei Konzentrationen von 6, 9 und 12 mMol lag der Nutzeffekt der Zusatzleistung zwischen 3 und 5 % und damit immer höher als vor Strophanthin. Es fällt weiter auf, daß die prozentuale Zunahme des Glukoseverbrauchs unter Strophanthin mit zunehmender Außenkonzentration abnahm. Nimmt man an, daß bei der sehr geringen Außenkonzentration von 3 mMol der Verbrauch der Glukose durch schlechte Diffusion in die Zelle limitiert ist, so würde dies für die Theorie von KIEN et alia sprechen, daß Strophanthin den Eintritt von Glukose in die Zelle verbessert.

3.) Nutzeffekt bei Anwesenheit von Hexanoat und Hydroxybutyrat: (Abb. 18)

Gab man zusammen mit Strophanthin Hexanoat, so sank der Glukoseverbrauch, wie im Versuch M 65 gezeigt wurde, um 66 % unter die Ausgangslage, während die Leistung um 171 % anstieg (Abb. 18). Es lag der Schluß nahe, daß der Herzmuskel auch unter erhöhten Leistungsanforderungen die Verbrennung von Hexanoat bevorzugt. Ob hier aber nun tatsächlich auch eine Verschiebung zum Fettstoffwechsel vorlag und bezogen auf

den Sauerstoffverbrauch der Nutzeffekt höher oder niedriger liegt, kann erst eine Gesamtbilanz unter Messung des O_2 - Verbrauchs zeigen.

Ähnliche Ergebnisse erhielt man bei Zugabe von β -OBS. Wie oben bereits erwähnt, konnte eine maximale Senkung des Glukoseverbrauchs erst mit wesentlich höheren Dosen erreicht werden. Bei einer 15 mMol. Glukose - konzentration kam es nach 1 mMol. Hexanoat zu einer 50 %igen, nach 15 mMol. β -OBS nur zu einer 35 %igen Hemmung der Glukosecarboxylierung. Hatte sich unter 15 mMol. β -OBS und 15 mMol. C^{14} - Glukose ein neues Gleichgewicht eingestellt, und man gab nun Strophanthin (5×10^{-7} g/ml) zu, so stieg nur die Herzleistung ohne Steigerung des Glukoseverbrauchs. Ähnliche Beobachtungen hatte K. Müller bei 30 mMol. β -OBS gemacht.

D) Glukoseverbrauch und Leistung unter Adrenalin : (Abb. 19,20)

Unter Adrenalin kam es zu einer Steigerung der Herzleistung unter gleichzeitiger Erhöhung von Amplitude und Frequenz. Die Erhöhung des Glukoseverbrauchs war stärker als die Leistungszunahme. Es kam daher zu einer Abnahme des Nutzeffekts. Zugaben von Hexanoat auf dem Maximum der Glukoseverbrennung und Adrenalinzugabe führte ohne wesentliche Beeinflussung der Arbeitsleistung zu einem raschen Absinken des Glukoseverbrauchs. Hier bestand aber ein Unterschied zwischen Strophanthin und Adrenalin. Unter Strophanthinzugaben sank trotz Arbeitssteigerung der Glukoseverbrauch um die gleiche Höhe (- 60 %) unter die Ausgangslinie, wie es ohne Leistungszunahme geschehen wäre. Unter Adrenalin kam es zwar auch zu einer Senkung, die aber über der Normalhöhe blieb. Möglicherweise hängt das mit der stärkeren Steigerung der Glukosedecarboxylierung unter Adrenalin oder mit der erhöhten Frequenz zusammen.

M 68

NUTZEFFEKT UND GLUKOSEVERBRAUCH
NACH ZUGABE VON ADRENALIN UND
HEXANOLAT IN TYRODELOESUNG (15 mM
GLUKOSE)

π 26,21 nC C¹⁸O₂
 $\times$ 0,393 μ M/h
GLUKOSEVERBRAUCH

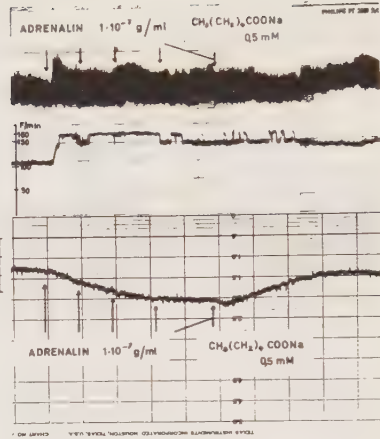


Abb. 19

M 68

$E = \text{ARBEIT} / h$

$U = \text{NUTZEFFEKT}$

$= \frac{E \cdot 100}{G} \%$

$G = \text{GLUKOSEVERBRAUCH}$
 $\mu \text{ Mol/h}$

$G^* = G \cdot 9564 \text{ cmg/h}$
ATP ENERGIEGEWINN

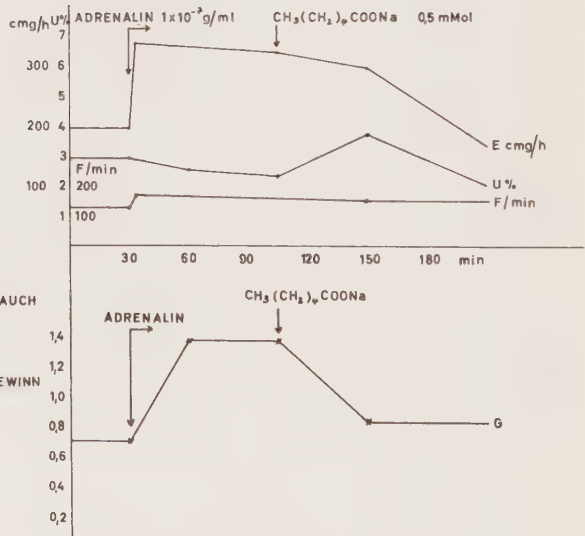


Abb. 20

F) Die Wirkung von Reserpin auf den Glukoseverbrauch,
die Herzleistung und den Strophanthineffekt :

Um festzustellen, wie Catecholamin - verarmte H.V. auf eine Leistungssteigerung nach Strophanthin reagieren, wurden auf Trockenfutter gesetzte Meerschweinchen drei Tage lang mit ansteigenden Mengen Reserpin (Sedaraupin 1 - 3 mg) i.p. vorbehandelt. Sie zeigten danach struppi - ges Fell, Speichel- und Tränenfluß als typisches Zeichen der Catecholaminverarmung. Die H.V. dieser Tiere zeigten im Unterschied zu früheren Befunden (SIESS und LINKEN - BACH, BURN) keine Verlangsamung der Herzfrequenz. Es kam vielmehr zu einer deutlichen Erhöhung, die an der oberen Grenze der Norm mit über 100 Schlägen pro min. lag. Nach Strophanthingaben kam es in allen Fällen zu einem starken Ansteigen der Kontraktionsamplitude und einem geringen Anstieg des Glukoseverbrauchs. Die Frequenz stieg in zwei Fällen an, in zwei anderen sank sie; im Versuch M 72 besonders auffällig. Hierbei kam es trotz starker Erniedrigung der Frequenz nur auf Grund der gesteigerten Amplitude zu einer Erhöhung der Leistung bei gesteigertem Nutzeffekt. Der Glukoseverbrauch blieb hier anfangs konstant und stieg erst nach ca. 30 min. mit der Frequenzerhöhung an. Es können damit die Versuche von TANZ und MARCUS nicht bestätigt werden, die einen Zusammenhang zwischen Strophanthineffekt und Catecholamin - gehalt annehmen.

G) Einwirkung von Thyroxin und Tri-jod-Thyronin
in vitro und in vivo :

1.) In vitro: Abb. 21)

Thyroxin und Tri-jod-Thyronin steigerten in Kon - zentrationen von 10^{-6} bis 10^{-5} g/ml ohne Beeinflussung der Spontanrhythmik und der Kontraktionsamplitude den Glukoseverbrauch. Dies wird besonders deutlich durch zusätzliche Steigerung auf dem Kontraktionsmaximum nach Strophanthin (Abb. 21, M 73). Gab man anschließend Hexanoat in aufsteigender Konzentration, so blieb der

sonst übliche Abfall der C^{14} -Decarboxylierung von markierter Glukose aus. Die Wirkung von Thyroxin trat nach einer Latenzzeit von etwa 10 min. ein und erreichte das Maximum nach etwa 1/2 Stunde. Im umgekehrten Fall wurde die durch Hexanoat bedingte Herabsetzung der Decarboxylierung, die auch durch Strophanthin trotz Leistungsanstieg nicht verbessert werden konnte, nach Thyroxin (10^{-5} g/ml) rückläufig. Durch Adrenalin konnte diese Wirkung noch verstärkt werden. Thyroxin verschob demnach bei Anwesenheit von Hexanoat das Stoffwechselgleichgewicht zugunsten des Kohlehydratstoffwechsels. Ob dies dadurch zustande kommt, daß der Gesamtstoffwechsel mitgesteigert wird, oder ob es sich um eine reine Verschiebung der Gleichgewichte handelt, kann ebenfalls erst durch Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs oder durch Versuche mit markiertem Hexanoat geklärt werden.

2.) In vivo :

Versuche mit thyroxinvorbehandelten Tieren :

Um festzustellen, ob thyroxinvorbehandelte Tiere in der Stoffwechsellage ähnlich reagieren, wurden 6 Versuche mit Meerschweinchen unternommen, die seit 8 Wochen auf Trockenfutter gesetzt waren und über 3 Tage mit 1 mg/die Thyroxin i.p. vorbehandelt waren. In zwei Fällen zeigte sich eine anfänglich sehr hohe Spontanfrequenz von 180 - 200 Schlägen/min. Durch Strophanthin (5×10^{-7} g/ml) kam es außer dem positiv inotropen Effekt zu einer Steigerung der Frequenz. Danach kam es sehr rasch zum Stillstand. Hexanoatzugaben zeigten hier nicht das übliche Absinken des Glukoseverbrauchs.

In allen anderen Fällen führte eine Hexanoatzugabe zur üblichen Senkung des Glukoseverbrauchs, der allerdings nicht so ausgeprägt war. Die widersprüchlichen Ergebnisse können evtl. auf eine noch zu niedrige Thyroxindosis und -einwirkzeit zurückzuführen sein. Sie zeigen aber, daß die Ausgangslage der Tiere doch von Einfluß auf den Glukoseumsatz ist. Vor allem wäre hier die mögliche Abhängigkeit der Strophanthinempfindlichkeit vom Thyroxinspiegel zu klären.

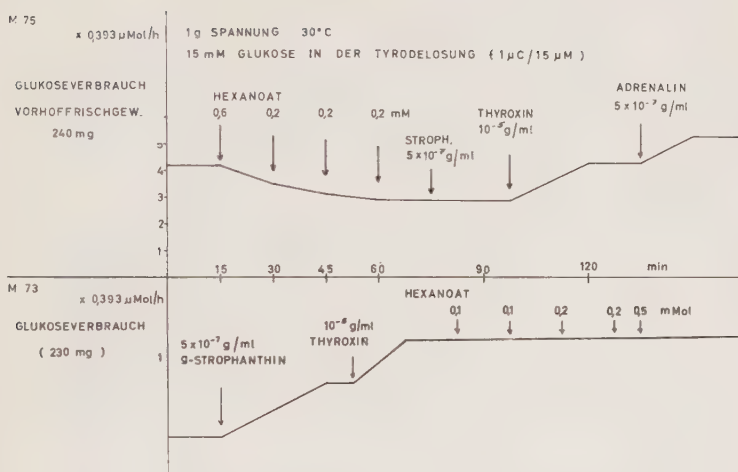


Abb. 21 -

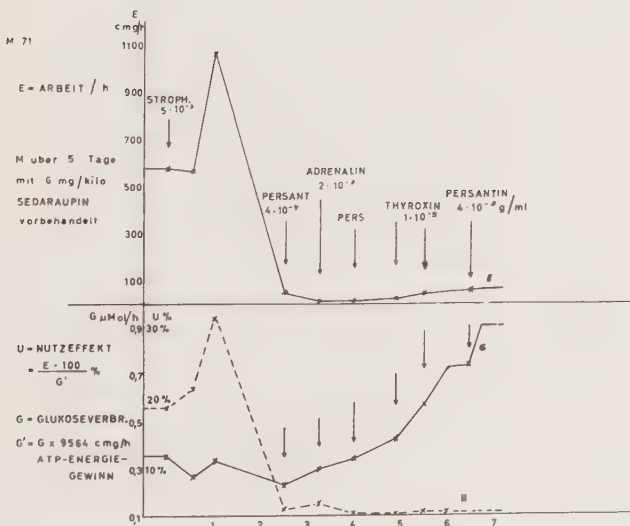


Abb. 22

H) Glukoseverbrauch und Herzleistung unter Einwirkung
verschiedener Substanzen :

1.) Äthanol :

Äthanolzugabe führte in einem Versuch in einer Konzentration von 0,5 % = 110 mMol zu einer Senkung der Decarboxylierung um 20 % (V. 81). Die Herzleistung wurde um etwa 10 % gesenkt.

2.) Rotenon :

Rotenon (5×10^{-6} g/ml), ein Inhibitor des Wasserstoff - transportes in der Atmungskette bei der Übertragung des Wasserstoffs von DPN auf Flavoprotein, gelöst in 0,5 %igem Alkohol, zeigte gegenüber dem Äthanol nur noch eine geringe zusätzliche Hemmung von etwa 7 %. Diese Wirkung war durch Adrenalin nur in geringem Umfang reversibel zu beeinflussen, was auf die resultierende, vermehrte Arbeitsleistung zurück - geführt werden könnte. (V. 81).

3.) Persantin : (Abb. 22, 23, 24)

Von Persantin ist aus früheren Versuchen bekannt, daß es die Glukosedecarboxylierung beträchtlich steigern kann (KUNZ et al.). Um festzustellen, wie es unter Erschöpfungsbedingungen nach Strophanthin wirkt, wurde ein Versuch mit einem reserpinvorbehandelten Tier, das damit catecholaminverarmt war, unternommen (V. 71, Abb. 22). Unter Strophanthin kam es zu einer Steigerung der Arbeit, die nach Reserpinbehandlung von einem geringfügigen Absinken des Glukoseverbrauchs begleitet war. Eine Spontan - erhöhung der Frequenz führte zu der erwarteten Rückstands - kontraktur mit weiterem Absinken des Glukoseverbrauches. Persantin in einer Konzentration von 4×10^{-5} g/ml bewirkte, kurz vor dem Herztillstand zugegeben, unter Frequenzverlangsamung ein Wiedereinsetzen der Kontraktionen unter gleichzeitiger Teillösung der Kontraktur. Damit verbunden war ein allmähliches Ansteigen des Glukoseverbrauchs. Nach Zufuhr von Adrenalin (2×10^{-7} g/ml) traten Arrhythmien auf, die durch erneute Persantinzugaben nicht zu beheben waren. Nach Thyroxin (10^{-6} g/ml) trat eine weitere beträchtliche Steigerung des Glukoseverbrauchs auf, die mit

M 65

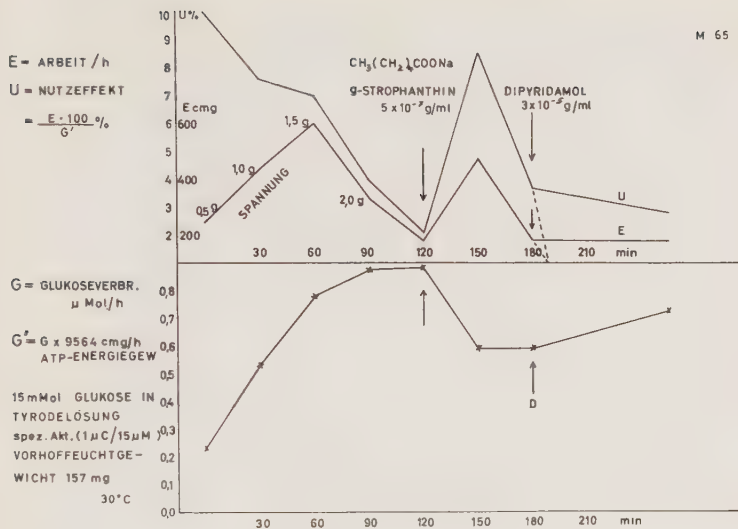


Abb. 23

M 70

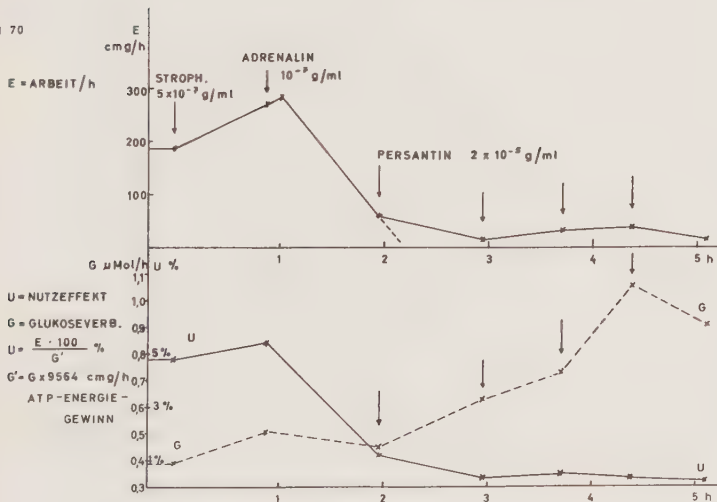


Abb. 24

Wiedereinsetzen der Spontanrhythmik und weiterer Lösung der Kontraktur einhergehen. Persantin verstärkt diese Wirkung von Thyroxin bis zu einem gewissen Grad. Da die Arbeitssteigerung nach Persantin gegenüber der Thyroxinwirkung nicht mehr zunahm, dürfte es sich beim Persantin um eine nicht arbeitsbedingte Stoffwechselwirkung handeln. Persantin in einer Konzentration von 10^{-6} g/ml scheint ähnlich wie Thyroxin nach Hexanoat eine Verschiebung zum Kohlehydratstoffwechsel hervorzurufen (V. 65 und 66).

Im Versuch M 65 (Abb. 23) wurde 1 mMol. Hexanoat zusammen mit 5×10^{-7} g/ml Strophanthin gegeben; trotz der Arbeitssteigerung trat erwartungsgemäß eine Senkung der C^{14} -Decarboxylierung auf, die aber durch Persantin deutlich gehemmt werden konnte. Nach weiterer Zufuhr des ausschäumen - den Persantins stieg der Glukoseverbrauch innerhalb einer Stunde fast wieder zur Ausgangshöhe an. In zwei Versuchen wurde nach mehrtägiger Reserpinbehandlung ebenfalls eine starke positive inotrope Wirkung nach Strophanthingaben (Abb.24) festgestellt, während der Glukoseverbrauch nicht im selben Maße anstieg. Nach Adrenalin kam es nach einer Steigerung der Frequenz nur zu Rückstandskontrakturen. Durch Persantinzugabe (10^{-5} g/ml) auf dem Gipfel der Kontraktur kam es zu allmählichem Wiedereinsetzen der Spontanrhythmik und zu einer Steigerung der Decarboxylierung, die über das Ausgangsniveau hinausging. Das Maximum der Wirkung war nach 2 1/2 Stunden erreicht. Gab man nun hohe Dosen C_6 (Hexanoat, 1 - 3 mMol) zu, so konnte die Decarboxylierung nur mäßig - um 15 % - gesenkt werden, im Unterschied zu normalerweise 50 % (V. 70). In ähnlicher Weise war durch Persantin die Hemmung der Decarboxylierung nach β -OBS rückläufig zu beeinflussen. Am stillstehenden Herzvorhof führte Persantin bei Anwesenheit von Thyroxin eine weitere Steigerung der Glukosedecarboxylierung herbei, die vorher durch 10 mMol. β -OBS herabgesetzt war (V. 71 und 81). Der gleiche Effekt war nach Hexanoatbehandlung zu beobachten. Die Versuche sprechen dafür, daß Persantin ähnlich wie Thyroxin den Herzstoffwechsel zur Kohlenhydratseite verschiebt.

I) Leistung und Glukoseverbrauch unter Anacrobiose : (Abb. 25)

Nach Durchperlung mit einem Gasgemisch von 95 % N_2 und 5 % CO_2 kommt es nach einer kurzen Latenz unter Sistieren der Kontraktionen erwartungsgemäß zum Absinken der Decarboxylierung fast bis zum Nullpunkt als Folge der Blockierung der Atmung. Eine Restdecarboxylierung von ca. 12 % geht weiter. Diese kann aus dem Pentose-Phosphat-shunt stammen. Man muß aber auch an die Möglichkeit denken, daß durch das Schlauchsystem Luftsauerstoff eindringt und eine Restatmung erhalten bleibt.

IV Diskussion :

1.) Die Versuchsergebnisse zeigen, daß gegenüber der früheren Methode, die in der Arbeit von K. Müller niedergelegt ist, wesentliche Fortschritte erzielt werden konnten. Es gelang die Lösung des Problems einer Trennung von Muskelkammer und Oxydationskammer herbeizuführen, ohne daß das Flüssigkeitsvolumen und die Aktivität wesentlich erhöht werden mußten.

2.) Die Messung der Arbeitsleistung ist in dem neuen System durch Fehlen der Schaumbildung in der Muskelkammer wesentlich exakter.

3.) Es gelang durch Reinigung des Kieselgels unspezifische Artefakte und Adsorption von CO_2 auszuschalten und die Trocknung des Gases zu verbessern.

4.) Die zur Prüfung der Methode durchgeführten Grundlagenversuche ergaben eine mittlere Einstellzeit des Systems bis zum Steady state von etwa 2 - 3 Stunden. Die Versuche konnten bis zu 14 Stunden Dauer bei gleichzeitiger Messung der Kontraktionsarbeit durchgeführt werden. Die Glukosedecarboxylierung (von 0,5 - 0,8 mMol/100 g Feuchtgewicht), die naturgemäß nicht dem Gesamtglukoseverbrauch entspricht, da ein Teil der Glukose ins Glykogen geht (nach Williamson ca. 3 - 5 %), entspricht in der Größe der von anderen Autoren (WILLIAMSON und MORGAN) gefundenen Verbrauchsgröße am isolierten Rattenherz. Eine maximale Aufnahme von Glukose wurde bei 15 mMol Außenkonzentration gefunden; hier liegt offensichtlich die Sättigungsgröße.

HEMMUNG DER DECARBOXYLIERUNG

DURCH ERSTICKUNG MIT N_2 (95% N_2 + 5% CO_2)

x 26,21 nC¹⁴O₂/h
x 0,393 μ M/h
GLUKOSEVERBRAUCH

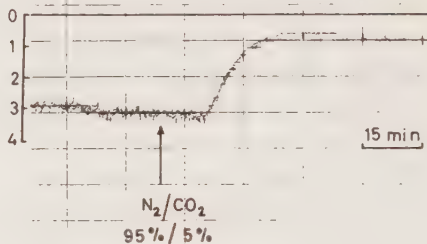


Abb. 25 -

C ¹⁴ O ₂ DECARBOXYLIERUNG ISOLIERTER MEERSCHWEINCHENHERZVORHÖFE					
KONZENTRAT. IN TYRODE LÖSUNG	C ¹⁴ -GLUCOSE		dL- C ¹⁴ β-HYDROXYBUTTERSÄURE		
	C ¹⁴ -GLUCOSE 16,6 mM	GLUCOSE 16,6 mM	GLUCOSE 16,6 mM	GLUCOSE 16,6 mM	_____
	_____	β-HBA L 30 mM (15 mM)	_____		
[GLUCOSE] [β-HBA]		dL: (1:19) L: (1:1)	dL: (1:19) L: (1:1)		
DECARBOXY- LIERUNG μ M/100 mg	1,200	0,434	1,15	1,05 ± 0,37	0,713 ± 0,09
FRISCHGE- WICHT UND STUNDE	30°C n=1	30°C n=2	30°C n=1	37°C n=4	37°C n=6
GLUCOSE: β-HBA 1 : 2,6					

Abb. 26 -

Werte zusammengestellt nach K. Müller

5.) Von besonderer Wichtigkeit scheint die stufenweise Herabsetzung der Glukosedecarboxylierung durch Metabolite des Fettstoffwechsels wie Hexanoat und β -Hydroxybutyrat zu sein, wenn bei einem Verhältnis 15 : 1 in der Außenkonzentration zwischen Glukose und Hexanoat die Decarboxylierung von Glukose um 50 % herabgesetzt wird, so scheint dies für die Bevorzugung der Fettsäureverbrennung durch den Herzmuskel zu sprechen. Für einen Verdrängungsmechanismus möglicherweise am Coenzym A spricht das Verhalten der Kurve und das Erreichen einer Sättigung für Hexanoat (bei 1 mMol). Es steht aber noch die Gesamtbi - lanz mit dem O_2 - Verbrauch aus, sowie der Versuch mit C^{14} - markiertem Hexanoat, um tatsächlich eine Verschiebung des Stoffwechsels vom Kohlenhydrat- zum Fettstoffwechsel zu beweisen. Das Gleiche gilt für die durchgeführten Versuche mit dl- β -Hydroxybutyrat, wobei die früher von K. Müller gemachten Beobachtungen bestätigt werden konnten, daß hier wesentlich höhere Außenkonzentrationen erforderlich waren, um einen Hemmeffekt zu demonstrieren. Nun ist dabei zu bedenken, daß von dem angebotenen racemischen Gemisch von dl- β -Hydroxybutyrat theoretisch nur die L - Form verbrannt wird, also nur die Hälfte der angegebenen molaren Konzentration verfügbar ist. Inwieweit der Herzmuskel, ähnlich wie es von der Leber beschrieben wird (LEUTHARDT), auch die D - Form umsetzen kann, ist unbekannt. Bei einer Außenkonzentration von 15 mMol Glukose und 15 mMol dl- β -Hydroxybutyrat (7,5 mMol L - Form) wird die Glukosedecarboxylierung in 2 Versuchen nur um 35 bzw. 27,8 % herabgesetzt. Dies bedeutet also, daß bei diesem Konzentrationsverhältnis von 1 : 1 (0,5 L) Glukose leicht bevorzugt wird. Vergleicht man hierzu die Ergebnisse mit denen von K. Müller (Abb. 26), so fällt auf, daß dort die Verbrennung von radioaktivem C^{14} - β -Hydroxybutyrat durch Glukoseanwesenheit deutlich verstärkt wird und daß im Überkreuzungsversuch bei einem Außenverhältnis von 1 : 1,9 (1 : 1 L) die Decarboxylierungsraten sich wie 1 : 2,5 verhielten, d.h. erst bei diesem Verhältnis wird β -Hydroxybutyrat gegenüber der Glukose in der Verbrennung bevorzugt. Erklärt werden kann dieser Unterschied dadurch, daß β -Hydroxybutyrat einen anderen Weg bei

der Verbrennung geht als Hexanoat, das erst in einer späteren Stufe zu diesem Metaboliten umgewandelt wird. Es erhebt sich dabei die Frage, ob die Bevorzugung der Verbrennung von Fettsäure von der Länge der Kohlenstoffkette abhängt und bei langkettigen, physiologischen Fettsäuren wie Palmitinsäure, die wegen ihrer Wasserunlöslichkeit in dieser Versuchsanordnung nicht geprüft werden konnte, noch günstiger liegen als bei Hexanoat. Daß die Glukosedecarboxylierung durch Metabolite des Stoffwechsels negativ beeinflußt wird, hat WILLIAMSON für Pyruvat, Acetat und Lactat am perfundierten Rattenherz nachgewiesen. Nach unseren Untersuchungen scheint nun die Fettsäure in ihrer Empfindlichkeit noch größeren Einfluß zu haben. WILLIAMSON fand hierbei eine Hemmung der Glukoseaufnahme bei Konzentrationen von 10 mMol. Pyruvat und Acetat und bei 5 mMol. Glukose in Höhe von 80 %. Infolge der verschiedenen Konzentration in unseren Versuchen ist ein quantitativer Vergleich erschwert.

6.) Leistungssteigerung des Herzens durch Erhöhung der Spannung führt bis zum Maximum der Starling'schen Kurve zu gleichmäßiger Erhöhung von Arbeit und Glukosedecarboxylierung. Der Nutzeffekt ändert sich dabei nicht. Erst bei weiterer Erhöhung der Spannung, die zu einem Absinken der Leistung führt, kommt es zu einer weiteren Erhöhung des Glukoseverbrauchs, wenn die Frequenz durch elektrische Reizung gleichgehalten wird. So sinkt der Nutzeffekt hinter dem Leistungsoptimum stark ab. Leistungssteigerung durch Erhöhung der Frequenz führte in allen Fällen (Frequenzerhöhung durch elektrische Reizung, durch Adrenalin oder Histamin, 10^{-6} g/ml.) zu einem prozentual höheren Anstieg des Glukoseverbrauchs gegenüber dem Leistungszuwachs, so daß der Nutzeffekt bei Leistungssteigerung durch die Frequenzerhöhung regelmäßig absank.

Dieser Unterschied zwischen Leistungssteigerung durch erhöhte Kontraktionsleistung und Leistungssteigerung durch Frequenzerhöhung kann besonders deutlich am Beispiel der Strophanthinwirkung demonstriert werden. Regelmäßig konnte hierbei eine starke Erhöhung des Nutzeffektes beobachtet werden, der bei Frequenzerhöhung sofort absank, bedingt durch den folgenden Erschöpfungsstillstand und das gleichzeitige Ansteigen

des Glukoseverbrauchs. Erst nach dem Stillstand kam es zu einem Absinken der Glukosedecarboxylierung.

Bedeutungsvoll erscheint auch die prozentual höhere Glukoseaufnahme unter Strophanthin bei niedrigen Glukoseaußenkonzentrationen, die deutlich trotz der gesteigerten Arbeitszunahme, gesetzmäßig mit zunehmender Glukoseaußenkonzentration abnimmt. Dabei ist es aber wichtig, daß in jedem Fall und bei jeder Konzentration der Zuwachs des Nutzeffektes immer über dem vor Strophanthinzugabe liegt. Dies steht in Einklang mit den Vorstellungen von KIEN et alia, die eine Erhöhung der Glukoseaufnahme durch die Zellmembran durch Strophanthin annehmen. Es kann allerdings aus unseren Befunden nicht gesagt werden, ob diese erhöhte Aufnahme nur durch eine erhöhte Zellpermeabilität oder durch die erhöhte Arbeitsleistung erfolgt.

7.) Die Steigerung der Glukosedecarboxylierung nach Strophanthin wird in jedem Fall durch Hexanoat unterdrückt, bzw. in voller Höhe um etwa 50 - 60 % herabgesetzt, wie es bei Hexanoat allein bei gleicher Konzentration (1 mMol) auch beobachtet wurde. Da die Leistungssteigerung von Strophanthin davon unbeeinflusst bleibt, ist anzunehmen, daß tatsächlich die Energiereserven für die Leistungssteigerung durch Verbrennung des Hexanoat mobilisiert werden und die Glukoseverbrennung bei Anwesenheit von Fettsäuren zurückgedrängt wird. Inwieweit dies für den Herzmuskel hinsichtlich des Sauerstoffverbrauchs günstig ist, kann nur eine gleichzeitige Sauerstoffverbrauchsanalyse ergeben, oder durch Versuche mit markiertem Hexanoat, da die Größe des Hexanoatumsatzes unbekannt ist. Mit β -Hydroxybutyrat verhält es sich ähnlich, auch hier wird bei hoher Konzentration kein Anstieg der Glukosedecarboxylierung nach Leistungssteigerung unter Strophanthin beobachtet, doch fällt dabei auf, daß kein Abfall wie bei Hexanoat erfolgt. Dies entspricht den Versuchen von K. Müller.

Die Glukoseverbrauchssteigerung unter Adrenalin wird durch Hexanoat ebenfalls herabgesetzt, nur fällt dabei auf, daß es nicht wie bei Strophanthin zum Abfall unter das Ausgangsniveau kommt. Inwieweit hier die Frequenzsteigerung mit der obliquen Glukoseverbrauchssteigerung eine Rolle spielt, oder ob eine direkte Glykolysesteigerung des Adrenalins verantwortlich ist, kann zunächst nicht entschieden werden.

8.) Von TANZ et al. wurde ein Zusammenhang zwischen Strophanthinwirkung und Catecholamingehalt angenommen. In ähnlicher Weise wie er versuchten wir, das Catecholamin im Herzen durch mehrtägige Reserpinvorbehandlung der Tiere herabzusetzen. Die ausgeprägte positive inotrope Wirkung von Strophanthin an diesen Herzvorhöfen zeigte, daß der Kontraktionseffekt nicht über Catecholamin gehen kann. Auch die Steigerung des Nutzeffektes lag im Bereich der unbehandelten Tiere. Doch fiel auf, daß in einigen Versuchen trotz der Arbeitssteigerung durch Strophanthin die Glukosedecarboxylierung gesenkt wurde oder nur sehr gering anstieg. Man könnte danach vermuten, daß evtl. die Steigerung des Glukoseverbrauchs mit der Anwesenheit von Catecholamin etwas zu tun hat.

9.) Es interessierte nun, durch welche Einflüsse das Gleichgewicht Kohlenhydrat-zu Fettstoffwechsel beeinflusst werden kann. Von Thyroxin ist eine Steigerung des Gesamtstoffwechsels bekannt (RADENBACH); auch am Herzen liegen darüber Untersuchungen vor (YUSUF u.a.). Es ist nun interessant, daß die, trotz Steigerung der Herzleistung unter Strophanthin, durch Hexanoat herabgesetzte Glukosedecarboxylierung wieder rückläufig wird, wenn Thyroxin oder Trijod-Thyronin in Konzentrationen von 10^{-5} bis 10^{-6} g/ml zugegeben wird. Adrenalin steigert diesen Effekt noch weiter. Auch in anderer Reihenfolge gegeben, führt nach Thyroxin- oder Trijod-Thyroninvorgabe Hexanoat bei 1 und 2 mMol Außenkonzentration nicht mehr zum Abfall der Glukosedecarboxylierung. Dies weist auf die entscheidende Bedeutung des Hormons für die Regulierung der Stoffwechselwege im Herzmuskel hin. Erste Versuche mit thyroxinvorbehandelten Tieren zeigten, daß ein erhöhter Thyroxinspiegel die Stoffwechselausgangslage des Herzvorhofs in gleicher Weise beeinflusst und möglicherweise auch für die Spontanfrequenz und die Strophanthinempfindlichkeit von Bedeutung ist.

10.) Persantin, das in früheren Versuchen zu einer beträchtlichen Steigerung der Glukosedecarboxylierung führte (KUNZ et al.), zeigte nun interessanterweise gewisse Ähnlichkeiten mit Thyroxin. Ähnlich wie bei Thyroxin kann durch Persantin der Strophanthinerschöpfungsstillstand nach Frequenzsteigerung durch Adrenalin wesentlich gebremst werden, wobei es dann auch unter Persantin zu einem deutlichen Anstieg des Glukoseverbrauchs kommt. Ähnlich wie Thyroxin vermag auch Persantin,

die Hexanoatdepression zu beeinflussen. Weitere Untersuchungen scheinen zur Klärung notwendig.

11.) Die Prüfung weiterer Substanzen wie Äthanol, das in einer Konzentration von 110 mMol ebenfalls zu einer Senkung der Decarboxylierung führte, sowie Rotenon, einem Inhibitor des H_2 - Transports, zeigte, daß die Methode für die Prüfung von Stoffwechselwirkungen auch allgemeiner Art brauchbar ist.

Zusammenfassung :

- 1.) Die in einer früheren Arbeit von K. Müller beschriebene Methodik zur gleichzeitigen Registrierung der Arbeit isolierter Herzvorhöfe und der Decarboxylierung C^{14} - markierter Substrate des Glukose - und Fettstoffwechsels wurde weiter verbessert und durch Trennung von Muskelkammer und Oxygenatorkammer die Voraussetzungen geschaffen, mit Sauerstoffelektroden gleichzeitig den Sauerstoffverbrauch mit zu bestimmen.
- 2.) Versuche mit C^{14} - u - Glukose zeigen, daß mit zunehmender Glukosekonzentration in der Nährlösung die Glukosedecarboxylierung ansteigt und bei 15 mMol die Sättigungsgrenze erreicht wird.
- 3.) Im Starling'schen Diagramm führt eine Erhöhung der Spannung bis zum Maximum der Arbeitsleistung zu keiner Verschiebung des Nutzeffektes der verbrauchten Glukose. Dann sinkt - bei gleichbleibender Frequenz - durch Sinken der Arbeitsleistung und steigendem Glukoseverbrauch der Nutzeffekt rasch ab.
- 4.) Arbeitssteigerung durch Erhöhung der Kontraktionsamplitude mit 5×10^{-7} g/ml Strophanthin führt in jedem Fall zur Erhöhung des Nutzeffektes. Prozentual ist der Glukoseverbrauch gegenüber der Steigerung der Arbeitsleistung immer wesentlich geringer, doch ist bei niedriger Glukoseaußenkonzentration die Glukosedecarboxylierung prozentual höher, als bei hohen Außenkonzentrationen.
- 5.) Erhöhung der Frequenz durch elektrische Reizung, Adrenalin oder Histamin führt zu einer höheren Glukosedecarboxylierung als der Arbeitssteigerung entspricht, infolgedessen sinkt der Nutzeffekt der verbrauchten Glukose. Besonders deutlich wird dies auf dem Maximum der Strophanthinwirkung und führt hier rasch zum Erschöpfungsstillstand; der Glukoseverbrauch sinkt dann ab.
- 6.) Der Glukoseverbrauch wird durch Hexanoat kompetitiv herabgesetzt, wobei bei einer Außenkonzentration von 15 mMol Glukose und 1 mMol Hexanoat die Decarboxylierung um 50 % absinkt. Für β -Hydroxybutyrat beträgt dieser Wert bei einem Verhältnis von 15 mMol zu 15 mMol nur 30 %.
- 7.) Trotz Steigerung der Herzleistung durch Strophanthin oder Adrenalin kommt es unter Hexanoat zur Hemmung des Glukoseverbrauchs.

8.) Thyroxin- und Trijod-thyronin in einer Konzentration von 10^{-5} bis 10^{-6} g/ml heben die Wirkung von Hexanoat und β -Hydroxy - butyrat auf und erhöhen die Glukosedecarboxylierung.

9.) Persantin zeigt in seiner Wirkung auf die Glukosedecarboxy - lierung Ähnlichkeiten mit dem Thyroxin.

- Morgan, H. E., Regen, D. M. and Park, C. R. Identification of a mobile carrier-mediated sugar transport system in muscle
J. Biol. Chem. 239, 369 (1964)
- Morgan, H. E. and Parmeggiani, A. Regulation of glycogenolysis in muscle
J. Biol. Chem. 239, 2435 (1964)
- Morgan, H. E. and Parmeggiani, A. Regulation of glycogenolysis in muscle
J. Biol. Chem. 239, 2440 (1964)
- Müller, K. Eine Untersuchungsmethode zur gleichzeitigen Bestimmung der Leistung und des Substratverbrauches isolierter Meerschweinchenherzvorhöfe unter pharmakologischen Einwirkungen
Diss. Marburg (1965)
- Regen, D. M., Young, D.A.B., Davis, W. W., Jack, J. and Park, C. R. Adjustment of Glycolysis to energy utilization in the perfused rat heart
J. Biol. Chem. 239, 381 (1964)
- Reiter, M. und Barron, E. S. G. Über die direkte Fermentwirkung von Herzglykosiden
N. Schmiedeberg. A. exp. Path. Pharm. 214, 341 (1952)
- Siess, M. und Linkenbach, H. J. Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der anaphylaktischen Reaktion am isolierten Meerschweinchenherzvorhof
Med. Welt 26, 1409 (1960)
- Tanz, R. D. and Marcus, M. Influence of endogenous cardiac catecholamine depletion on the force and rate of isolated heart preparations and their response to ouabain
J. Pharm. exp. Ther. 151, 38 (1965)

- Williamson, J. R. Effects of insulin and diet on the metabolism of l(+)-lactate and glucose by the perfused rat heart
Biochem. J. 83, 377 (1962)
- Williamson, J. R. Inhibition of glucolysis by acetate and pyruvate in the isolated perfused rat heart
J. Biol. Chem. 240, 2308 (1964)
- Wollenberger, A. Metabolic action of the cardiac glycosides
N. Schmiedeb. A. exp. Path. Pharm. 219, 408 (1953)
- Yusuf, S. M. and
Gans, J. H. In vitro metabolism of atrial and ventricular myocardium :
Effect of ouabain
Arch. int. Pharmacodyn. 160, 188 (66)
- Yusuf, S. M. and
Gans, J. H. In vitro metabolism of atrial and ventricular myocardium from reserpine treated dogs :
Effect of ouabain
Arch. int. Pharmacodyn. 160, 196 (66)
- Yusuf, S. M. and
Gans, J. H. In vitro metabolism of atrial and ventricular myocardium from normal and atropine treated dogs :
Effect of carbachol
Arch. int. Pharmacodyn. 160, 204 (66)
- Kadenbach, B. Der Einfluß von Thyreoidhormonen in vivo auf die oxidative Phosphorylierung und Enzymaktivitäten in Mitochondrien
Biochem. Zeitschr. 344, 49 (1966)

Lebenslauf.

Am 1. April 1939 wurde ich, Ulrich Peter, als Sohn des Stadtinspektors Georg Peter und seiner Frau Elvira, geb. Engler in Frankfurt an der Oder geboren.

Von 1945 - 1953 besuchte ich die Grundschule und anschliesend die Oberschule in Elsterwerda, an der ich 1957 das Abitur bestand. Nach Ablegung der Ergänzungsprüfung zum Abitur im Jahre 1958 begann ich im Sommersemester des gleichen Jahres mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Philipps - Universität in Marburg an der Lahn, an der ich 1961 das Physikum und im Oktober 1964 das Staatsexamen bestand.

Im Oktober 1965 begann ich nach Ableistung der Wehrpflicht mit dem experimentellen Teil der vorliegenden Arbeit.

Meine akademischen Lehrer waren in Marburg die Herren Professoren und Dozenten :

Braun-Falco, Dimroth, Ebbinghaus, Gedigk, Hartmann, Hennis, Hering, Heuser, Janke, Korb, Kottmeyer, Lang, Löhr, Mahr, Marx, Maurath, Meyer, Nissing, Pantke, Petry, Roger, Rollhäuser, Rosemann, Schmid, Seidel, Siegert, Siess, Walcher.

Herrn Prof. Dr. M. Siess danke ich für die Über -
lassung des Themas und für die großzügige Unter -
stützung bei der Anfertigung der Arbeit.

Herrn Feinmechanikermeister Otto danke ich ebenso
für die Ratschläge und Anfertigung der technischen
Apparaturen.

